

André Mendes Arent

**PERSPECTIVAS PARA O USO DE BIOMARCADORES DE
ESTRESSE OXIDATIVO E ESTRATÉGIAS ANTIOXIDANTES
NO TRAUMATISMO CRANIOENCEFÁLICO**

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós Graduação em
Neurociências, do Centro de Ciências
Biológicas da Universidade Federal de
Santa Catarina, como requisito parcial
para obtenção do Grau de Mestre em
Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. Alcir Luiz Dafré

Florianópolis

2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Arent, André Mendes

Perspectivas para o uso de biomarcadores de estresse oxidativo e estratégias antioxidantes no traumatismo cranioencefálico / André Mendes Arent ; orientador, Alcir Luiz Dafré - Florianópolis, SC, 2013.

162 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Neurociências.

Inclui referências

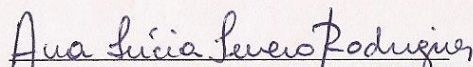
1. Neurociências. 2. Traumatismo cranioencefálico. 3. Estresse oxidativo. 4. Peroxidação lipídica. 5. Defesas antioxidantes. I. Dafré, Alcir Luiz. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Neurociências. III. Título.

ANDRÉ MENDES ARENT

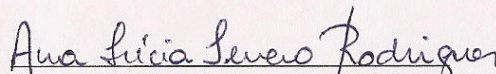
**“PERSPECTIVAS PARA O USO DE BIOMARCADORES DE
ESTRESSE OXIDATIVO E ESTRATÉGIAS
ANTIOXIDANTES NO TRAUMATISMO
CRANIOENCEFÁLICO”**

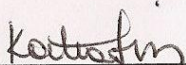
Esta dissertação foi julgada e aprovada para a obtenção do Grau de Mestre em Neurociências na área de Neuropsicobiologia no Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina

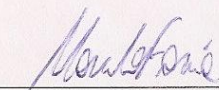
Florianópolis, 22 de agosto de 2013.

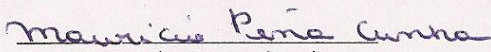

Profa. Ana Lúcia Severo Rodrigues
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:


Profa. Ana Lúcia Severo Rodrigues
Presidenta – UFSC


Profa. Kátia Lin
Membro externo ao Programa


Prof. Marcelo Farina
Membro - UFSC


Dr. Mauricio Peña Cunha
Membro - UFSC

Dedico este trabalho a meus filhos
Catarine e Matheus, minhas
inspirações diárias.

AGRADECIMENTOS

A minha esposa Gabrielle van de Sande Silveira pela dedicação e apoio incondicional.

Aos meus filhos Matheus van de Sande Arent e Catarine van de Sande Arent que mesmo sem compreender suportaram, por vezes, a ausência do pai.

Ao meu orientador Alcir Luiz Dafré por ter viabilizado este trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Defesas Antioxidantes, em especial Luiz Felipe de Souza, pelo auxílio e solicitude diante de dúvidas acadêmicas.

Ao colega Maurício Peña Cunha pela disponibilidade e orientação metodológica.

À colega Danúbia Bonfanti dos Santos pela disponibilidade em auxiliar na revisão desta dissertação.

Aos docentes e discentes do Programa de Pós-Graduação em Neurociências pela oportunidade de inserção em meio acadêmico e científico.

Ao Nivaldo, pela atenção, tratamento, amizade e auxílio prestado.

Aos doutores Marcelo Farina, Ana Lúcia Severo Rodrigues, Kátia Lin, Maurício Peña Cunha e Danúbia Bonfanti dos Santos que aceitaram avaliar esta dissertação.

"Penso noventa e nove vezes e nada descubro;
deixo de pensar, mergulho em profundo silêncio -
e eis que a verdade se me revela."

(Albert Einstein)

RESUMO

O trauma cranioencefálico (TCE) é uma patologia de grande impacto social e econômico. O TCE é a principal causa de mortalidade em pessoas com menos de 40 anos de idade. Desde os anos noventa do século 20, houve poucos avanços no tratamento e diagnóstico do TCE. Sabe-se que uma cadeia de eventos danosos, incluindo neuroinflamação, excitotoxicidade, disfunção do metabolismo mitocondrial e estresse oxidativo contribuem para a morte celular no TCE. O entendimento destes processos é essencial para projetarmos novas perspectivas de abordagem diagnóstica e terapêutica. Esta revisão tem por objetivo revisar a literatura e esclarecer qual é a correlação entre os dados envolvendo o estresse oxidativo e o traumatismo cranioencefálico, visando contribuir com novas perspectivas para a área. Esta revisão visa responder as seguintes perguntas: a) O estresse oxidativo está relacionado com o TCE? b) Marcadores de peroxidação lipídica são efetivos na avaliação e prognose no TCE? c) Quais estratégias antioxidantes estão sendo investigadas no TCE e qual é sua eficácia? e d) Quais as perspectivas para o uso de marcadores relacionados ao estresse oxidativo e de antioxidantes na prognose e tratamento do TCE? Desta forma, analisou-se a validade de se usar marcadores de peroxidação lipídica, enzimas antioxidantes, entre outros, na prognose do TCE. Também avaliamos estratégias antioxidantes testadas em estudos pré-clínicos e clínicos, apontando para novas perspectivas clínicas. Foi realizada revisão sistemática de publicações indexadas no Pubmed cruzando “*traumatic brain injury or head injury*” com *oxidative stress*, *Nrf2*, *antioxidant*, *glutathione* e *flavonoid*. A base de

dados foi filtrada focada nos objetivos e os principais resultados foram analisados. Há dados inequívocos da participação da peroxidação lipídica no dano induzido por TCE. A correlação dos marcadores de peroxidação lipídica com o prognóstico porém, não pode ser estabelecida. Um desses marcadores de estresse oxidativo, 8-iso-prostaglandina-F2 α (8-iso-PGF2 α), entretanto, apresentou grande correlação com o nível de severidade do trauma, e merece atenção em futuras pesquisas. As estratégias antioxidantes avaliadas até então, apesar de mostrarem algum sucesso pré-clínico, não foram bem sucedidas em ensaios clínicos. Perspectivas para futuros estudos podem incluir novos marcadores que poderão aumentar o poder preditivo de desfecho. Ativadores da via Nrf2/ARE, como é o caso de flavonóides, são uma estratégia neuroprotetora com boa perspectiva de sucesso. Isto baseado no fato de que estudos pré-clínicos foram bem sucedidos em demonstrar que a ativação desta via confere neuroproteção.

Palavras-chave: traumatismo cranioencefálico, estresse oxidativo, fator 2 Relacionado à NF-E2, peroxidação lipídica, defesas antioxidantes, glutathione.

ABSTRACT

Traumatic brain injury (TBI) is a pathology of great social and economic impact. The TBI is the main cause of death in people under 40 years of age. Since the nineties of 20th century, there have been few advances in the treatment and diagnosis of TBI. It is known that a chain of damaging events, including neuroinflammation, excitotoxicity, mitochondrial metabolism dysfunction and oxidative stress contribute to cell death in the TBI. The understanding of these processes is essential for projecting new perspectives of diagnostic and therapeutic approach. This review aims to analyse data from to determine what is the correlation between the oxidative stress and traumatic brain injury, to contribute with new perspectives for the area. This review aims to answer the following questions: a) The oxidative stress is related to the TBI? b) The lipid peroxidation markers are effective in the evaluation and prognosis in TBI? c) What antioxidant strategies are being investigated in TBI and what is its effectiveness? and d) What are the perspectives for the use of markers related to oxidative stress and antioxidants on prognosis and treatment of TBI? We conducted systematic review of publications indexed in Pubmed including the terms "traumatic brain injury or head injury" and oxidative stress, antioxidant, glutathione, Nrf2 and flavonoids. The database was filtered focused on the objectives and the main results were analyzed. There is clear evidence of the involvement of lipid peroxidation in TCE-induced damage. The correlation of markers of lipid peroxidation with the prognosis, however, cannot be established. One of these markers, 8-iso-prostaglandin-F2 α (8-iso PGF2- α), however, showed high correlation

with the level of severity of the trauma, and deserves attention in future research. Antioxidants strategies assessed thus far, despite showing some pre-clinical success, have not been successful in clinical trials. Prospects for future studies may include new markers that may increase the predictive power of outcome. Activators of via Nrf2ARE, as is the case of flavonoids, are neuroprotective strategy with good prospects of success. This based on the fact that pre-clinical studies have been successful in demonstrating that the activation of this pathway confers neuroprotection.

Keywords: traumatic brain injury, oxidative stress, NF-E2-related factor 2., lipid peroxidation, antioxidants defenses, glutathione.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fisiopatologia do TCE.....	29
Figura 2. Barreira hematoencefálica	32
Figura 3. Edema cerebral	34
Figura 4. Excitotoxicidade glutamatérgica e processos intracelulares de lesão secundária	39
Figura 5. Cascata de peroxidação lipídica	49
Figura 6. Metabolismo da glutathione	54
Figura 7. Produção de ERO no TCE.....	61
Figura 8. Perspectivas de marcadores de peroxidação lipídica e estratégias antioxidante no TCE	125

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Escala de coma de Glasgow.....	24
Quadro 2. Classificação tomográfica de Marshall	25
Quadro 3. Escala de desfecho de <i>Glasgow</i> e escala de desfecho de <i>Glasgow</i> estendida	26
Quadro 4. Correlação da peroxidação lipídica com o TCE em modelos animais	72
Quadro 5. Marcadores de estresse oxidativo no TCE pesquisados em estudos clínicos	91
Quadro 6. Estratégias antioxidantes no TCE avaliadas em estudos pré-clínicos	105
Quadro 7. Estratégias antioxidantes no TCE avaliadas em estudos clínicos	120

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido araquidônico
ADP	Adenosina difosfato
AIF	Fator de indução de apoptose
AMPA	Alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4- isoxazolpropiónico
AQP	Aquaporina
ARE	Elemento de reposta antioxidante
ATP	Adenosina trifosfato
BHE	Barreira hematoencefálica
CAPE	Ácido cafeico fenil éster
CAT	Catalase
COX	Ciclooxigenase
CRASH	<i>Corticosteroid Randomization after Significant Head Injury</i>
CTE	Cadeia transportadora de elétrons
Cu/Zn-SOD	Superóxido dismutase cobre/zinco
ECG	Escala de coma de <i>Glasgow</i>
EDG	Escala de desfecho de <i>Glasgow</i>

EDGE	Escala de desfecho de <i>Glasgow</i> estendida
EGCG	Galato-3-epigallocatequina
eNOS	Óxido nítrico sintetase endotelial
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FDA	<i>Food and drugs administration</i>
Fe⁺²	Íon ferroso
Fe⁺³	Íon férrico
FSC	Fluxo sanguíneo cerebral
G6PD	Glicose-6-fosfato desidrogenase
GCL	Glutamato-cisteína ligase
GPx	Glutathione peroxidase
GR	Glutathione reductase
GSH	Glutathione
GSSG	Glutathione oxidada
GST	Glutathione S-transferase
4-HNE	4-Hidroxi-2-nonenal
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio
HO	Heme oxygenase
IL-1β	Interleucina-1β

IMPACT	<i>International Mission for Prognosis and Analysis of Clinical Trials in Traumatic Brain Injury</i>
iNOS	Óxido nítrico sintetase indutível
8-iso-PGF2α	8-iso-prostaglandina F2 α
Keap1	<i>Kelch like-ECH-associated protein 1</i>
LAD	Lesão axonal difusa
LOO•	Radicais lipídicos
MDA	Malondialdeído
MnSOD	Superóxido dismutase manganês
MPT	Transição de permeabilidade mitocondrial
NAC	N-acetilcisteína
NADPH	Nicotinamina adenina dinucleotídeo fosfato reduzida
NFκB	Fator nuclear kappa B
NGF	Fator de crescimento neural
NMDA	N-metil-d-aspartato
nNOS	Óxido nítrico sintetase neuronal
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintetase
Nrf2	Fator relacionado ao NF-E2

3-NT	3-Nitrotirosina
O₂^{•-}	Anión superóxido
¹O₂	Oxigênio <i>singlet</i>
•OH	Radical hidroxil
8-OHdG	8-Hidroxi-2'-deoxiguanosina
OMS	Organização mundial da saúde
ONOO-	Peroxinitrito
PAM	Pressão arterial média
PARP	Poli-ADP-ribose polimerase
PC-SOD	SOD lecitinizada
PEG-SOD	Polietileno glicol conjugado a SOD
PIC	Pressão intracraniana
PPC	Pressão de perfusão cerebral
Prx	Peroxirredoxinas
SAMU	Serviço atendimento móvel de urgência
SNC	Sistema nervoso central
SOD	Superóxido dismutase
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
tBHQ	Terc-butil-hidroquinona
TCE	Traumatismo cranioencefálico

TNF- α Fator de necrose tumoral alfa

Trx Tiorredoxinas

XO Xantina oxidase

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	21
1.1 - Traumatismo cranioencefálico	21
1.1.1 – Conceito, histórico e epidemiologia	21
1.1.2 - Classificação	22
1.2 - Mecanismos de lesão secundária	29
1.2.1 - Edema Cerebral	30
1.2.2 - Barreira hematoencefálica	30
1.2.3 - Aquaporinas	33
1.2.4 - Edema citotóxico x edema vasogênico	33
1.2.5 - Transição de permeabilidade mitocondrial	35
1.2.6 - Distúrbio do cálcio	36
1.2.7 - Excitotoxicidade	38
1.2.8 - Neuroinflamação	40
1.3 - O cérebro é um dos órgãos mais suscetíveis a danos oxidativos	42
1.3.1- Espécies reativas de oxigênio	43
1.3.2 - Defesas antioxidantes	51
2- JUSTIFICATIVA	56
3 - OBJETIVOS	58
4 - METODOLOGIA	59
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
5.1 - Cálcio e disfunção mitocondrial	63
5.2 - Estresse oxidativo e edema	65

5.3 - Marcadores de estresse oxidativo no TCE - dados pré-clínicos.....	66
5.4 - Marcadores do estresse oxidativo no TCE - dados clínicos	87
5.5-Estratégias antioxidantes no TCE - dados pré-clínicos	96
5.5.1-Scavengers.....	96
5.5.2-Moduladores das defesas antioxidantes.....	100
5.6 -Estratégias antioxidantes no TCE - dados clínicos	116
6- CONSIDERAÇÕES FINAIS	122
REFERÊNCIAS	126

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - Traumatismo cranioencefálico

1.1.1 – Conceito, histórico e epidemiologia

Conceitualmente o traumatismo cranioencefálico (TCE) é definido como alteração da função cerebral, alteração da consciência, convulsão, coma ou déficit neurológico sensitivo ou motor que resulta da aplicação de uma força, penetrante ou não, sobre o crânio (BRUNS; HAUSER, 2003). O TCE é uma patologia grave, gerada pela lesão mecânica do crânio e associada a altas taxas de morbidade e mortalidade, constatação que se observa desde a antiguidade. Provavelmente, o TCE é tão antigo quanto à humanidade, havendo registros em papiros do antigo Egito sobre o tratamento do TCE (KAMP et al., 2012). Após o final do século 18, grandes avanços ocorreram, com a descoberta dos antibióticos, a introdução da ventilação mecânica, a ressuscitação cardiorrespiratória, o monitoramento da pressão intracraniana. O desenvolvimento dos aparelhos de tomografia computadorizada permitiram melhoras no diagnóstico e no tratamento precoce de lesões intracranianas (STEIN et al., 2010). Estes avanços se refletiram em uma redução de 50 % da taxa de mortalidade. Porém, a partir de 1990 não houve uma redução nas taxas de mortalidade em pacientes vítimas de TCE. Este fato ainda não é bem esclarecido, porém pode ser uma consequência do atendimento de pacientes mais graves

pelos serviços pré-hospitalares, como o Serviço de Atendimento Móvel de Urgência (SAMU), o que aumentaria a mortalidade hospitalar, ou devido à documentação de mortes, até então, não notificadas (MAAS et al., 2008).

Apesar da incidência do TCE estar diminuindo em regiões desenvolvidas da América do Norte, Europa, Japão e Austrália, ela permanece em proporções epidêmicas em regiões em desenvolvimento, onde houve aumento da utilização de veículos automotores, como no Brasil (360 por 100.000 pessoas) (MASET et al., 1993). Entre as causas do TCE destacam-se acidentes automobilísticos, ferimentos por arma de fogo, acidentes durante atividades recreativas, quedas e agressões físicas (CORONADO et al., 2011). Martins e colaboradores chamam a atenção para que 75% dos casos de TCE grave, na Grande Florianópolis estão associados a acidentes de trânsito (MARTINS et al., 2009).

De acordo com a organização mundial de saúde (OMS) o TCE é a principal causa de morte em pessoas com menos de 40 anos. Estima-se, ainda, que o TCE irá ultrapassar muitas outras doenças com expectativa de se tornar a terceira causa de morbidade e mortalidade no ano de 2020 (HYDER et al., 2007; MURRAY; LOPEZ, 1997). Koizumi e colaboradores demonstraram que a taxa de mortalidade do TCE no Brasil está na faixa de 26,2 a 39,3 por 100.000 pessoas, denotando a relevância desta patologia (KOIZUMI et al., 2000). Acredita-se, ainda, que o alto custo da assistência médica destes pacientes pode comprometer todo um sistema de saúde (TAGLIAFERRI et al., 2005).

1.1.2 - Classificação

A classificação do TCE pode ser feita quanto a sua gravidade, quanto a dimensão do dano estrutural, quanto ao desfecho e ainda quanto ao prognóstico. Além destas o TCE também pode ser classificado quanto ao mecanismo que pode ser fechado ou penetrante, e ainda quanto a sua morfologia que pode ser lesão focal (hematomas intracerebral, epidural e subdural) ou difusa (concussão ou lesão axonal difusa) (SAATMAN et al., 2008).

O TCE pode ser classificado quanto a sua gravidade, usando-se a escala de coma de *Glasgow* (ECG) demonstrada no Quadro 1. Nesta escala são avaliadas as respostas motora, verbal e ocular a um estímulo, geralmente doloroso. A pior nota nesta escala é 3 e a melhor 15, sendo que os pacientes são estratificados quanto à gravidade: 3-8 grave, 9-13 moderado e 14-15 leve (TEASDALE; JENNETT, 1974).

Quadro 1. Escala de coma de Glasgow¹

Abertura Ocular²	Escore	Verbal³	Escore	Motor⁴	Escore
Espontânea	4	Orientado	5	Obedece	6
Verbal	3	Confuso	4	Localiza	5
Doloroso	2	Inapropriado	3	Flexão Inespecífica	4
Nenhuma	1	Sons incompreensí- veis	2	Decorticação	3
		Nenhuma	1	Decerebração	2
				Nenhuma	1

Fonte: TEASDALE; JENNETT, 1974.

¹O resultado é a soma das 3 pontuações ocular, verbal e motora. ²Abertura ocular pode ser espontânea, ao chamado verbal, ao estímulo doloroso, ou nenhuma. ³A resposta verbal pode ser a emissão de sons orientados, confusos, inapropriados (sem lógica), incompreensíveis ou nenhum. ⁴A resposta motora pode ser obedecer ao comando verbal, localizar a dor ao estímulo doloroso, flexão inespecífica ao estímulo doloroso, posições patológicas como posição em decorticação ou decerebração ou ainda nenhuma.

Avaliação da dimensão do dano estrutural é realizada de acordo com a classificação de Marshall, como descrito no Quadro 2. Essa classificação é baseada em imagens de tomografia computadorizada. Esta classificação, descreve a presença ou ausência de uma lesão de massa (MARSHALL; MARSHALL; KLAUBER, 1991). Lesão de massa é o aumento de volume do conteúdo intracraniano seja por edema, contusões ou outros. Ela diferencia lesões difusas, as quais

produzem aumento da pressão intracraniana (por exemplo, a compressão das cisternas basais e desvio da linha média). Porém esta escala falha em prever o prognóstico.

Quadro 2. Classificação tomográfica de Marshall

Tipo de Lesão	Principais achados
Lesão Difusa I	Nenhuma patologia visível
Lesão Difusa II	Cisternas presentes, desvio de linha média de 0-5mm, e/ou lesão densa presente, sem lesão de massa > 25 mL
Lesão Difusa III (edema)	Cisternas comprimidas ou ausentes, desvio de linha média de 0-5 mm, e sem lesão de massa > 25 mL
Lesão Difusa IV (desvio)	Desvio de linha média > 5 mm, sem lesão de massa > 25 mL
Lesão de massa operável	Qualquer lesão de massa operável
Lesão de massa não operável	Lesão de alta ou baixa densidade > 25 mL, não passível de intervenção cirúrgica

Fonte: MARSHALL; MARSHALL; KLAUBER, 1991.

Para classificar as vítimas de TCE, quanto ao desfecho, utilizam-se as escalas de desfecho de *Glasgow* (EDG) e escala de desfecho de *Glasgow* estendida (EDGE). Tais escalas tentam medir e transformar em um valor tangível o grau de disfunção neurológica que segue ao TCE, como demonstrado no Quadro 3 (WILSON; PETTIGREW; TEASDALE, 1998).

Quadro 3. Escala de desfecho de *Glasgow* e escala de desfecho de *Glasgow* estendida

Escala de desfecho de <i>Glasgow</i>	Escore	Escala de desfecho de <i>Glasgow</i> estendida	Escore
Morte	1	Morte	1
Vegetativo	2	Vegetativo	2
Comprometimento severo (consciente, mas dependente)	3	Comprometimento severo de membros inferiores	3
Comprometimento moderado (independente mas incapaz)	4	Comprometimento severo dos membros superiores	4
Boa recuperação (pode realizar atividades normais)	5	Comprometimento moderado de membros inferiores	5
		Comprometimento moderado de membros superiores	6
		Boa recuperação de membros inferiores	7
		Boa recuperação de membros superiores	8

Fonte: WILSON; PETTIGREW; TEASDALE, 1998.

Outra maneira de classificar o TCE é quanto ao seu prognóstico. O estudo "*International Mission for Prognosis and Analysis of Clinical Trials in Traumatic Brain Injury*" (IMPACT) desenvolveu uma calculadora prognóstica baseada nos dados de admissão de mais de 8500 pacientes (STEYERBERG et al., 2008). Esta calculadora pode ser

acessada no endereço “www.tbi-impact.org”, onde são fornecidas características clínicas como idade, reposta motora, pupilas, hipóxia, hipotensão, dentre outros. No endereço eletrônico é possível estabelecer uma escala prognóstica, que tem sido utilizada como um valioso instrumento clínico na predição do desfecho. Czeiter e colaboradores ressaltam que o poder preditivo desta calculadora pode ser ampliado com o uso de biomarcadores de TCE (CZEITER et al., 2012). Para determinar um bom biomarcador, parece essencial que mecanismos fisiopatológicos envolvidos na fase inicial do TCE sejam conhecidos em detalhe. Além destes aspectos, o entendimento mais aprofundado dos mecanismos regulatórios permitirá a ativação de mecanismos de neuroproteção endógenos.

1.1.3 - Parâmetros clínicos no TCE

Apesar dos avanços tecnológicos que diminuíram expressivamente a mortalidade do TCE até o início dos anos 90, o manejo clínico do TCE permanece centrado na manutenção de parâmetros fisiológicos como a pressão de perfusão cerebral (PPC), pressão intracraniana (PIC) e fluxo sanguíneo cerebral (FSC) (NORTH et al., 2012). A PIC é a pressão que pode ser medida dentro do crânio. A pressão arterial média (PAM) é a média da pressão com que o sangue é bombeado pelo coração, e a partir destes obtemos a PPC ($PAM - PIC = PPC$), que é a pressão com que o sangue perfundirá o encéfalo. A utilização da PPC como parâmetro clínico baseia-se na sugestão teórica de que a manutenção de um fluxo sanguíneo cerebral é indispensável para o fornecimento de nutrientes necessários ao bom funcionamento do

cérebro (LING; NEAL, 2005). A manutenção de um equilíbrio entre a PPC e a PIC preserva o tecido cerebral e resgata a área de penumbra isquêmica. Esta última trata-se da área que circunda o tecido cerebral lesado pelo trauma ou isquemia, e que possui tecido cerebral viável se for possível manter as condições de sobrevivência celular, avaliada indiretamente pelo FSC. O FSC, adequado para esta região, promove grandes chances para que as células na área de penumbra sobrevivam. Grände e colaboradores ressaltam que a intervenção clínica no intuito de recuperar a área de penumbra isquêmica pode melhorar o desfecho clínico dos pacientes vítimas de TCE (GRÄNDE; REINSTRUP; ROMNER, 2009).

O desfecho clínico é o resultado das lesões primárias e secundárias causadas pelo TCE (Figura 1). As lesões primárias são aquelas relacionadas ao impacto inicial (lacerações, contusões, fraturas, lesão axonal difusa). Lesões secundárias são aquelas que se estabelecem após o trauma inicial, incluindo hematomas, edema, e uma cadeia de processos fisiopatológicos que promovem isquemia, o que resulta no agravamento da condição inicial (SAHUQUILLO; POCA; AMOROS, 2001). A isquemia, ou seja, o FSC inadequado frente às demandas metabólicas teciduais é um fator central, que desencadeia dano secundário do TCE. A diminuição do FSC leva progressivamente ao desenvolvimento de sintomas neurológicos, a perda da função da bomba Na^+/K^+ ATPase e ao edema citotóxico. Esta cadeia de processos pode culminar num completo distúrbio da homeostase do metabolismo energético celular, o que pode gerar o infarto (morte celular) da área em questão (ASTRUP; SIESJÖ; SYMON, 1981; BRANSTON et al., 1974; JONES et al., 1981).

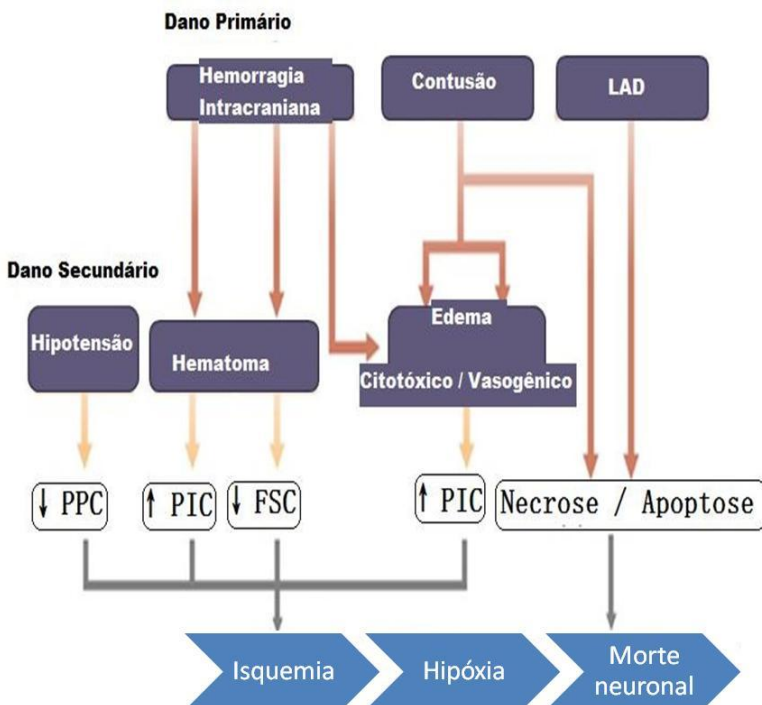


Figura 1. Fisiopatologia do TCE

A lesão primária (impacto) pode levar diretamente a morte celular. Após a lesão inicial lesões secundárias podem se instalar, como hematoma, edema, hipotensão. Estas alterações causam desequilíbrio entre a PPC e a PIC, o que leva a alterações no fluxo sanguíneo cerebral, gerando isquemia, hipóxia e morte celular. Abreviações: lesão axonal difusa (LAD), pressão de perfusão cerebral (PPC), fluxo sanguíneo cerebral (FSC), pressão intracraniana (PIC). Adaptado de NORTH et al., 2012.

1.2 - Mecanismos de lesão secundária

1.2.1 - Edema Cerebral

Situações patológicas como, por exemplo, dano tecidual, inflamação podem levar ao acúmulo de líquido nos tecidos, formando edema. O edema cerebral é a principal condição relacionada à elevação da PIC, repercutindo negativamente sobre o FSC, quando excluídas as condições que podem levar a uma intervenção cirúrgica como hematomas e contusões. Para a manutenção do FSC cerebral, o clínico tem como meta a manutenção da PIC em níveis baixos (< 20 mmHg) (EISENBERG et al., 1988). Para entender o processo de formação de edema é essencial conhecer alguns conceitos relacionados à barreira hematoencefálica (BHE) e à função das aquaporinas.

1.2.2 - Barreira hematoencefálica

A BHE consiste numa camada de células endoteliais justapostas e unidas pelas junções ocludentes. Ela está envolta por astrócitos, micróglia, pericitos (células mesenquimais de sustentação do capilar), neurônios, e matriz extracelular. Estas células desempenham um papel importante na manutenção da integridade da BHE (Figura 2). O endotélio que permeia o sistema nervoso central não possui fenestrações e possui baixa atividade pinocítica; as junções ocludentes são onipresentes e impedem o transporte paracelular de compostos hidrofílicos através da BHE. No endotélio cerebral, que compõe a BHE, as mitocôndrias estão presentes em maior número, quando comparado com células endoteliais periféricas. Este elevado número de

mitocôndrias permite o fornecimento adequado de energia para o transporte ativo de várias proteínas e fatores exigidos pelo sistema nervoso central (NIMJEE et al., 2011). A BHE é uma estrutura ativa e dinâmica que garante o fornecimento de compostos essenciais em concentrações adequadas. Entre estes compostos estão a glicose, por exemplo. A BHE, ao mesmo tempo, protege o encéfalo contra a entrada de substâncias potencialmente deletérias provenientes da circulação periférica. A BHE impede o transporte de substâncias para o encéfalo através de junções ocludentes, reações enzimáticas e sinalização de neurotransmissores (PARDRIDGE, 2005). Além disto, a BHE transporta seletivamente pequenas e grandes moléculas por difusão passiva e facilitada e transporte ativo. A integração sinérgica de todos os componentes estruturais e moleculares dá origem a este complexo funcional chamado BHE. O comprometimento da integridade da BHE é vista em inúmeros processos patológicos. O carácter discriminatório da BHE também é um impedimento para a chegada de medicamentos para o cérebro, incluindo agentes quimioterápicos, antivirais (FRICKER; MILLER, 2004).

A integridade da BHE impede a entrada no líquido da maioria das moléculas solúveis em água acima de 500 Da (BLYTH et al., 2009). Quando a integridade da BHE é comprometida, proteínas provenientes do tecido encefálico aparecem na circulação periférica (RAABE; GROLMS; SEIFERT, 1999; RAABE et al., 1998). O escape de substâncias através da BHE, quando associado ao TCE, não somente permite que moléculas que estão presentes no encéfalo alcancem o sangue, mas também permite que moléculas dos tecidos periféricos entrem no líquido. Tanto moléculas periféricas atingindo o líquido, bem

como moléculas do líquido atingindo a periferia, podem ser usadas como marcadores de TCE (REIBER; PETER, 2001; STAHEL et al., 2001).

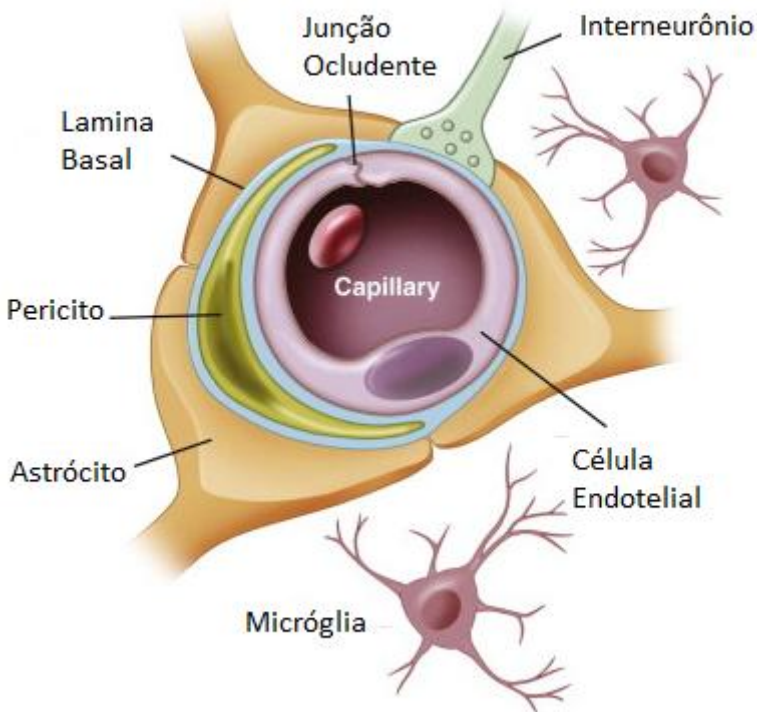


Figura 2. Barreira hematoencefálica

A BHE consiste em células endoteliais justapostas separadas pelas junções ocludentes. Esta configuração faz com que moléculas hidrofílicas maiores que 500 Da não alcancem o espaço intersticial. Ela está envolta num microambiente circundado por astrócitos (processos denominados pés astrocitários), neurônios, micróglia e pericitos (células mesenquimais de suporte ao capilar), bem como lamina basal (que confere suporte estrutural). Adaptado de NIMJEE et al., 2011.

1.2.3 - Aquaporinas

Aquaporinas (AQP) é uma denominação para uma família de, pelo menos, nove proteínas que estão envolvidas na formação de canais de água na membrana celular (MANLEY et al., 2000). Acredita-se que AQP 4 seja um canal celular de água primário do cérebro e esteja localizada nos pés astrocitários, que envolvem a BHE, junto à lâmina basal, fazendo interface com o líquido cefalorraquiano. Em modelos de edema cerebral citotóxico, a deleção da AQP 4 foi neuroprotetora, por dificultar a entrada de água na célula (BLOCH; MANLEY, 2007). Por outro lado, a deleção de AQP 4 em modelos de edema vasogênico resultou na diminuição da liberação da água da célula, promovendo piora no edema cerebral (BLOCH; MANLEY, 2007).

Tran e colaboradores descreveram um papel potencial para AQP 1 na homeostase da água após TCE experimental. Estes autores sugeriram que AQP 1 pode estar envolvida na fisiopatologia do edema e que ela poderia ser modulada por condições externas, tais como o pH e esteróides (TRAN et al., 2010).

1.2.4 - Edema citotóxico x edema vasogênico

O edema cerebral ocorre por dois mecanismos básicos e é esquematizado na Figura 3. O edema citotóxico é relacionado ao distúrbio do metabolismo energético celular (devido ao aporte inadequado de glicose e O₂, quando o FSC é insuficiente). O edema vasogênico é relacionado com o aumento da permeabilidade da BHE

(BAYIR; KOCHANKE; CLARK, 2003; WERNER; ENGELHARD, 2007).

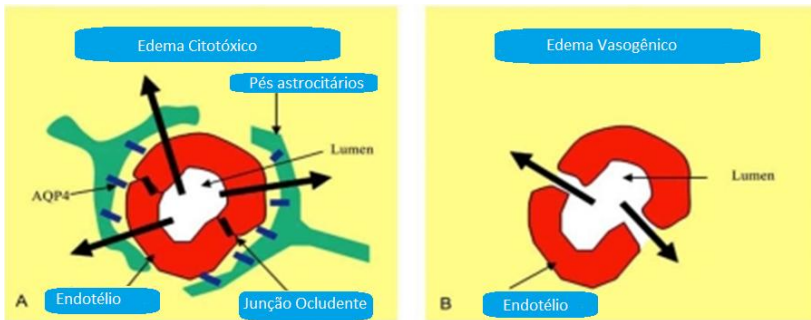


Figura 3. Edema cerebral

A) Quando o FSC é insuficiente há oferta inadequada de glicose e O_2 para as necessidades metabólicas teciduais, resultando na diminuição do ATP e da atividade da bomba Na^+/K^+ ATPase. Associado a isto ocorre um aumento na expressão de aquaporinas, o que permitirá o influxo de água e solutos para dentro da célula astrocitária, promovendo o edema citotóxico. B) Devido a alterações mecânicas, autodigestivas ou funcionais ocorre aumento da permeabilidade da BHE através da "abertura" das junções ocludentes, o que possibilita o acúmulo de proteínas e solutos no espaço intersticial, resultando no edema vasogênico. Adaptado de FRANCESCA; REZZANI, 2010.

O edema vasogênico é causado pela alteração da permeabilidade da BHE por mecanismos mecânicos ou autodigestivos, ou ainda funcionais da camada endotelial dos vasos cerebrais que são cruciais para manutenção da integridade da BHE. A disfunção da parede endotelial vascular cerebral permite uma transferência de íons e proteínas do compartimento intravascular encefálico para o extracelular (intersticial), levando ao acúmulo de fluido no cérebro. Isto leva ao aumento do volume do espaço extracelular e da PIC (DEWITT; PROUGH, 2003; UNTERBERG et al., 2004).

O edema citotóxico é caracterizado pelo acúmulo intracelular de água nos neurônios, astrócitos e micróglia. Esta patologia é causada pelo aumento da permeabilidade da membrana celular (devido à expressão aumentada de aquaporinas), disfunção das bombas iônicas devido à depleção de energia, e acúmulo intracelular de solutos osmoticamente ativos (STIEFEL; TOMITA; MARMAROU, 2005; UNTERBERG et al., 2004). O distúrbio do metabolismo energético leva ao acúmulo de ácido láctico, associado ao aumento da permeabilidade de membrana, que intensifica o edema, promovendo um ciclo vicioso de lesão.

Outros processos fisiopatológicos também estão envolvidos na formação do edema cerebral, dentre eles destacamos a seguir a excitotoxicidade, a neuroinflamação e o distúrbio do cálcio.

1.2.5 - Transição de permeabilidade mitocondrial

A integridade mitocondrial é crucial na manutenção da homeostase metabólica celular. Sabe-se que existe um processo que envolve o aumento da permeabilidade das membranas mitocondriais no caminho para a morte celular. Kroemer e coautores propuseram o termo transição de permeabilidade mitocondrial (MPT) para descrever este processo de permeabilidade aumentada da membrana mitocondrial induzida pelo cálcio (KROEMER et al., 1995). MPT tem sido descrito como o aumento da permeabilidade da membrana mitocondrial interna através da abertura de canais, chamados poros de transição da permeabilidade mitocondrial. A abertura desses poros é um evento devastador, resultando na perda do potencial de membrana, edema

mitocondrial e eventual ruptura da membrana mitocondrial externa. Esta perda de função mitocondrial produz profundas deficiências no metabolismo neuronal e no equilíbrio iônico (GOURIOU et al., 2011).

1.2.6 - Distúrbio do cálcio

O TCE leva ao influxo intracelular de cálcio através de numerosas rotas, incluindo, mas não limitado a: (1) abertura de canais dependentes de voltagem em consequência da deformação mecânica da membrana, (2) abertura de canais dependentes de agonistas mediada por neurotransmissores liberados no fluído extracelular e, (3) abertura de canais de cálcio específicos. O cálcio está envolvido na propagação de diversas cascatas deletérias responsáveis pela geração de lesão neuronal e morte após o TCE (FINEMAN et al., 1993; SHAPIRA et al., 1989). Ele desencadeia diversos mecanismos de lesão, incluindo a ativação de caspases e subsequente proteólise do citoesqueleto (YOUNG, 1988), transição de permeabilidade mitocondrial (HUNTER; HAWORTH, 1979), toxicidade por radicais livres e perturbação mecânica de membranas neuronais (FARKAS; LIFSHITZ; POVLISHOCK, 2006). Estes mecanismos estão envolvidos no início de várias formas de morte celular, incluindo apoptose e necrose (GWAG et al., 1999).

A sobrecarga intracelular de Ca^{+2} leva à ativação de enzimas (fosfolipases, calpaína, caspases e óxido nítrico sintetase) que induzem a célula para um processo de necrose ou apoptose (CHOI, 1995; WYLLIE; KERR; CURRIE, 1980; ZIPFEL et al., 2000). Na morte celular necrótica, há extravasamento do conteúdo celular para o

interstício, podendo liberar enzimas envolvidas na degradação de biomoléculas que podem levar as células ao redor à morte. Já a apoptose é um evento de morte celular organizado e dependente de energia, na qual há a condensação da cromatina, fragmentação nuclear e o processo de *membrane blebbing*, não afetando as células ao redor (CIRCU; AW, 2012).

Independente da etiologia, o influxo de cálcio não regulado pode liberar cálcio das reservas intracelulares, bem como das vesículas que contém glutamato. Assim a célula pode entrar em um ciclo vicioso, aumentando a concentração de cálcio no citosol, e promovendo a morte celular. Este influxo maciço de cálcio pode sobrecarregar a capacidade de armazenamento das células. O armazenamento do cálcio é desempenhado pelas mitocôndrias e pelo retículo endoplasmático. Em condições normais, as bombas iônicas mantêm os níveis citosólicos de cálcio cerca de 1000 vezes menores que no meio extracelular e em organelas celulares (SUAREZ, 2004).

O papel do cálcio, mediando dano e morte celular, levou a realização de ensaios clínicos de antagonistas de cálcio em pacientes vítimas de TCE. O antagonista de cálcio diidropiridínico (nimodipina) demonstrou pequeno benefício em populações não selecionadas (BAILEY et al., 1991; BRAAKMAN, 1994). A nimodipina, no entanto, mostrou uma tendência para um resultado mais favorável apenas em pacientes com hemorragia subaracnóidea traumática (HARDERS; KAKARIEKA; BRAAKMAN, 1996). A diminuta penetração no cérebro tem sido um argumento usado para explicar o efeito limitado da nimodipina no TCE.

1.2.7 - Excitotoxicidade

A excitotoxicidade do glutamato é um processo que aciona vários mecanismos intracelulares causadores de lesão. Depois do TCE há uma excessiva liberação de aminoácidos excitatórios, tais como o glutamato e aspartato. Estes neurotransmissores são liberados para o espaço extracelular a partir das terminações nervosas pré-sinápticas e pelos astrócitos. Os aminoácidos liberados ligam-se aos seus receptores, entre eles, os receptores ionotrópicos pós-sinápticos N-metil-D-aspartato (NMDA) e alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico (AMPA), ativando, assim, canais iônicos que promovem a elevação dos níveis intracelulares de Ca^{2+} e Na^+ (STONE; ADDAE, 2002). Uma consequência do excesso de glutamato é a despolarização da membrana celular. Esta despolarização secundária ao excesso de glutamato ativa canais de cálcio voltagem-dependente, levando a uma entrada de cálcio ainda maior, e assim, criando uma alça de retroalimentação positiva, o que leva ao dano celular (Figura 4) (GENNARELLI, 1993).

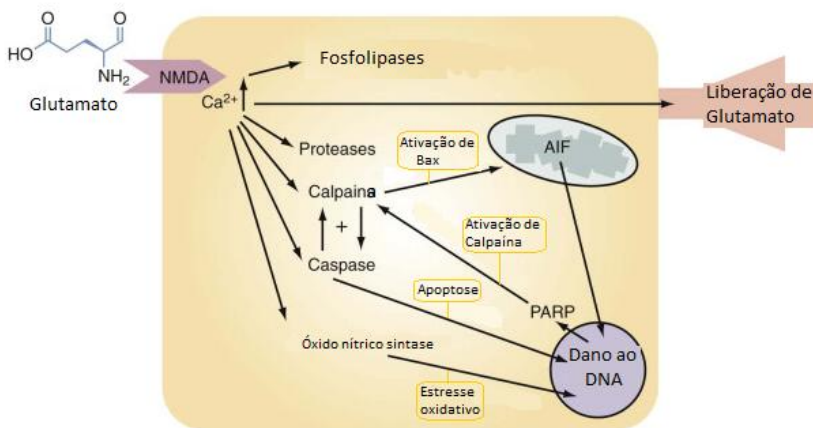


Figura 4. Excitotoxicidade glutamatérgica e processos intracelulares de lesão secundária

A excitotoxicidade glutamatérgica dispara diversos processos de lesão intracelular. Esses processos começam quando o glutamato se liga a um receptor pós-sináptico NMDA, que faz com que os níveis de cálcio intracelular aumentem. Isto leva à ativação de enzimas, tais como fosfolipases, proteases (e.g. calpaínas, caspases) e da enzima óxido nítrico sintetase. A protease calpaína degrada o citoesqueleto e ativa outras proteases, como as caspases, iniciando o processo de apoptose. Caspases podem, por sua vez, ativar a calpaína em uma alça de retroalimentação positiva. Em paralelo, uma via apoptótica independente de caspase é também ativada onde o fator de indução de apoptose (AIF), o qual é liberado do espaço intermembrana da mitocôndria. O AIF migra, então, para o núcleo, onde inicia processos que levam a condensação da cromatina e fragmentação de DNA. Este já é um estado tardio da apoptose. O óxido nítrico, produzido pela enzima óxido nítrico sintetase também pode danificar o DNA. A ativação da poli-ADP-ribose polimerase (PARP) também pode provocar danos ao DNA. O aumento do cálcio intracelular também provoca a liberação de glutamato, contido nas vesículas, assim, perpetuando e espalhando este processo. Adaptado de ZACKO; HAWRYLUK; BULLOCK, 2011.

Houve grande interesse no tratamento farmacológico para minimizar os danos causados pela excitotoxicidade do glutamato. Seis

ensaios clínicos fase II-III foram realizados (Eliprodil, Selfotel Int, Selfotel U.S., Cerestat, SaphirD-CPP-ene e CP101-606), mas apenas um mostrou ser benéfico na sobrevida dos pacientes (YURKEWICZ et al., 2005). O dexamabinol, um canabinóide pluripotente, que é antagonista não competitivo do receptor NMDA, bem como um sequestrador de radicais livres e inibidor do fator de necrose tumoral-alfa (TNF α). Em um ensaio clínico de fase II essa droga se mostrou segura e bem tolerada, e foi capaz de diminuir a pressão intracraniana. No entanto, na fase III do estudo, não foi encontrado nenhum efeito sobre o desfecho, mostrando, assim, a sua ineficácia (MAAS et al., 2006).

1.2.8 - Neuroinflamação

A neuroinflamação desempenha duas funções importantes e opostas: o dano cerebral mediado pela inflamação libera substâncias neurotóxicas; por outro lado, a neuroinflamação também está envolvida no reparo do tecido lesionado. Leucócitos polimorfonucleares começam a se acumular no tecido cerebral lesado 24 horas após a lesão (BIAGAS et al., 1992; SOARES et al., 1995). Trinta e seis a 48 horas após a lesão, encontramos os macrófagos (GIULIAN et al., 1989), que por sua vez, secretam muitos fatores, incluindo citocinas (MORGANTI-KOSSMANN; KOSSMANN; WAHL, 1992). Citocinas são substâncias vasoativas responsáveis por aumentar a permeabilidade vascular e induzir a formação de edema (KIM et al., 1992; MEGYERI et al., 1992), exercendo efeitos citotóxicos diretos nas células neuronais e gliais (TALLEY et al., 1995). Diversas citocinas exercem estes efeitos,

por exemplo, em modelos animais o fator de necrose tumoral α (TNF- α) é induzido entre 1 a 4 horas após o TCE. Acredita-se que esta resposta rápida seja devido à síntese de TNF- α por células primárias do sistema nervoso central (SNC), como glia e neurônios, ao invés de células inflamatórias sistêmicas (KNOBLACH; FAN; FADEN, 1999; TALLEY et al., 1995). TNF- α desempenha um papel importante na regulação do crescimento celular, inflamação e processos autoimunes (MERRILL; BENVENISTE, 1996). Além disso, TNF- α e interleucina-1 β (IL-1 β) podem exercer efeitos deletérios sobre o sistema nervoso central, levando a danos secundários, tais como edema vasogênico e morte neuronal e contribuindo, assim, para a fisiopatologia do TCE (GORDON et al., 1990; SELMAJ; RAINE, 1988). Por outro lado, citocinas inflamatórias também iniciam processos de cicatrização de feridas como fibrose e neovascularização (GIULIAN et al., 1989) e o TNF- α pode desempenhar um papel neuroprotetor na resposta imune contra excitotoxicidade, danos metabólicos e oxidativos após lesão cerebral isquêmica (BRUCE et al., 1996).

Existem claras evidências de que mecanismos inflamatórios estão envolvidos na patogênese da lesão cerebral precoce e tardia pós TCE. Logo, o controle da inflamação tem sido objetivo de vários estudos sobre o manejo do TCE. Os corticosteróides, que são potentes agentes anti-inflamatórios, foram avaliados no "*The corticosteroid randomization after significant head injury study*" (CRASH). Porém, este estudo demonstrou maior mortalidade nos pacientes tratados com corticosteróides, em relação ao placebo, associada a maiores taxas de infecção e sangramento digestivo (ROBERTS et al., 2004). Desta forma, o uso de corticosteróides está proscrito na prática clínica para o controle

da inflamação e tratamento do TCE, e não mais será abordado nesta dissertação.

1.3 - O cérebro é um dos órgãos mais suscetíveis a danos oxidativos

O cérebro consome uma grande parcela do O_2 utilizada pelo corpo (cerca de 20%), produzindo ERO como consequência do metabolismo aeróbio. O SNC ainda apresenta uma baixa concentração de enzimas antioxidantes, quando comparados a órgãos como fígado e rim, e isso combinado com seu grande consumo de O_2 o torna vulnerável a ERO. A concentração de catalase no cérebro, por exemplo, é muito baixa, sendo que esse órgão tem a capacidade de produzir H_2O_2 em grande quantidade (DRINGEN; PAWLOWSKI; HIRRLINGER, 2005). O SNC também possui uma grande quantidade de ácidos graxos poliinsaturados, o que facilita a ocorrência de cascatas de lipoperoxidação. De fato, diversos trabalhos apontam para a participação de danos a lipídeos de membranas em neuropatologias como isquemia/reperfusão, doenças neurodegenerativas, TCE, entre outros (CHEN et al., 2008; ITOH et al., 2013; PANDEY et al., 2011). O SNC ainda conta com uma grande quantidade de ferro, devido a várias enzimas dependentes desse metal para a produção de neurotransmissores e mielina. Com um aumento de oxidantes, essas proteínas podem ser oxidadas, liberando Fe^{2+} . O ferro livre contribui para a geração do radical $\bullet OH$ através da reação de Fenton ou de Harber Weiss (VALKO et al., 2007). Por estas e outras razões, o cérebro é considerado vulnerável ao dano oxidativo, e os neurônios em especial, pois possuem

níveis de antioxidantes menores do que outros tipos de células do sistema nervoso central (DRINGEN; GUTTERER; HIRRLINGER, 2000).

1.3.1- Espécies reativas de oxigênio

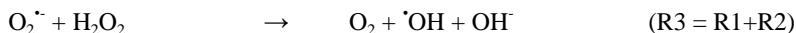
As células estão constantemente sendo expostas a diversos fatores estressores. Diversos agentes tóxicos (drogas, xenobióticos, quinonas), assim como diferentes processos fisiológicos e patológicos (isquemia/reperfusão, respiração celular) acabam produzindo substâncias extremamente reativas que podem oxidar componentes celulares. Dentre essas substâncias, as espécies reativas de oxigênio (ERO) tem um papel central em mediar esses danos oxidativos. As ERO são metabólitos reativos formados a partir da redução parcial do oxigênio.

O metabolismo energético celular necessita da presença de O_2 como aceptor final de elétrons durante a fosforilação oxidativa (respiração celular). Apesar do O_2 ser fundamental para a eficiência do metabolismo energético, ele também pode ser tóxico para as células. Essa toxicidade se deve principalmente pela formação de espécies parcialmente reduzidas. Estas moléculas têm um papel biológico importante tanto nos processos fisiológicos como patológicos. A ERO, que quando em excesso, podem causar danos a componentes celulares importantes, tais como DNA, lipídios e proteínas.

Acredita-se que 1-2% do oxigênio reduzido pela mitocôndria é convertido em ânion superóxido ($O_2^{\bullet -}$) na cadeia transportadora de

elétrons (BOVERIS, 1977; DRÖSE; BRANDT, 2012; KOWALTOWSKI; VERCESI, 1999). O ânion superóxido é formado pela adição de um elétron ao oxigênio molecular. Esta molécula não consegue atravessar a membrana celular por possuir uma carga negativa, mas pode se difundir através de alguns canais iônicos (MUMBENGEGWI et al., 2008). As células dispõem de uma enzima, a superóxido dismutase (SOD) que dismuta o $O_2^{\bullet-}$ a peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Este produto da reação, H_2O_2 , é uma molécula mais difusível por não possuir carga, permeável às membranas celulares, podendo exercer seus efeitos longe do local de produção (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

Outra ERO de grande relevância biológica é o oxigênio *singlet* (1O_2), que é a forma excitada do O_2 , e o radical hidroxil ($\bullet OH$). A reação não enzimática do H_2O_2 com o Fe^{2+} é o que resulta na produção do $\bullet OH$, na chamada reação de Fenton (R1). A reação do $O_2^{\bullet-}$ com o Fe^{3+} gerado a partir da reação de Fenton pode também gerar o $\bullet OH$ na reação de Haber-weiss (R3) (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Dentre as ERO, o $\bullet OH$ é mais reativo, podendo oxidar quaisquer moléculas biológicas. Devido a sua alta reatividade o $\bullet OH$ não consegue difundir para outros locais, agindo, assim, somente nos locais aonde foi produzido (IMLAY, 2003).



As ERO são produzidas continuamente na célula durante seu metabolismo normal. Uma das maiores fontes de ERO da célula é a mitocôndria, pois nela ocorrem diversas reações de óxido-redução durante a respiração celular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; VALKO et al., 2007). As ERO também são formadas em diversas reações enzimáticas como subproduto. A metabolização de quinonas dependente do citocromo P450 é acompanhada pela produção de $\text{O}_2\cdot^-$. A via de degradação de purinas é dependente da xantina óxido-redutase. Essa enzima converte hipoxantina em xantina e ácido úrico, e nesse processo é produzido ânion superóxido como subproduto, contribuindo para a produção de ERO em determinadas situações patológicas (ABRAMOV; SCORZIELLO; DUCHEN, 2007; VALKO et al., 2007). Nos peroxissomos também se observa uma grande produção de H_2O_2 proveniente da β -oxidação de ácidos graxos. Em condições normais os peroxissomos possuem uma grande quantidade da enzima catalase, que degrada H_2O_2 . Em situações patológicas, porém, aonde há danos nos peroxissomos, o H_2O_2 pode difundir para fora dessas organelas e contribuir para o estresse oxidativo.

As ERO podem ter papel fisiológico na reação contra patógenos e na sinalização celular (sinalização redox). Macrófagos e neutrófilos

expressam em grande quantidade a enzima NADPH-oxidase. Essa é uma enzima de membrana que catalisa a transferência de um elétron do NADPH para o oxigênio produzindo grande quantidade de $O_2^{\bullet -}$ em um evento denominado *respiratory burst*. Esse evento aumenta o poder destrutivo contra patógenos, ajudando a proteger o organismo contra microorganismos invasores (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; VALKO et al., 2007). As ERO, em especial o H_2O_2 , também agem como sinalizadores celulares. A alteração oxidativa em tióis de proteínas específicas pode alterar a forma e a função da proteína. Estas modificações redox ativam ou inativam enzimas, promovendo desta forma uma sinalização celular via óxido-redução de cisteínas de proteínas (DALLE-DONNE et al., 2007; WINTERBOURN; HAMPTON, 2008).

As ERO também podem modular a expressão de enzimas relacionadas à proteção celular. O fator de transcrição Nrf2 (fator relacionado à NF-E2) é mantido no citoplasma ligado à *Kelch like-ECH-associated protein 1* (Keap1). Esta proteína pode ser oxidada por ERO ou outros eletrófilos, liberando Nrf2. Este é então translocado para o núcleo, onde se liga aos "elementos responsivos à resposta antioxidante" (ARE), culminando na expressão de diversas enzimas antioxidantes relacionadas à proteção contra ERO, no aumento da concentração do antioxidante glutatona, no estímulo a produção de NADPH, no aumento do reconhecimento e reparo de proteínas danificadas (WAKABAYASHI et al., 2010). Além disso, já foi descrito que a ativação de Nrf2 pode levar a uma diminuição da ativação do fator nuclear kappa B (NfκB), um fator de transcrição envolvido na produção de citocinas inflamatórias. Assim, as ERO, quando em baixas

concentrações, podem aumentar as defesas antioxidantes e combater a inflamação.

Além das ERO, as espécies reativas de nitrogênio também possuem uma grande importância biológica. Em especial, o óxido nítrico (NO) é uma molécula pequena e permeável que está envolvido em diversos processos fisiológicos como regulação da pressão arterial, regulação do sistema imune e neurotransmissão (BERGENDI et al., 1999).

A pesar de necessárias para o funcionamento normal da célula, as ERO podem promover danos celulares. Para evitar os danos oxidativos, as células possuem diversas defesas contra essas moléculas instáveis, denominadas defesas antioxidantes. Por definição, um antioxidante é qualquer molécula que, em baixa concentração quando comparado a um substrato oxidável, retarda ou previne a oxidação desse substrato (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Os antioxidantes podem ser divididos em dois grupos principais: antioxidantes enzimáticos ou não enzimáticos. Dos não enzimáticos podemos destacar o ácido ascórbico (vitamina C), tocoferol (vitamina E), beta caroteno, glutatona (GSH), polifenóis, entre outros. A célula ainda conta com uma grande variedade de enzimas capazes de neutralizar ERO e ERN, como a glutatona peroxidase (GPx), tioredoxinas (Trx), peroxirredoxinas (Prx), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD).

Quando temos o desequilíbrio entre a geração de radicais livres e a capacidade de neutralização das defesas antioxidante temos como resultante o estresse oxidativo, que é responsável pela perturbação de vários mecanismos homeostáticos celulares através da alteração oxidativa de macromoléculas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

Assim, há uma fina regulação entre a produção de ERO, que é necessária para a manutenção de processos fisiológicos, e a sua neutralização por antioxidantes. Os efeitos fisiológico das ERO ocorrem quando elas se encontram em níveis baixos a moderados, porém, disfunções metabólicas, assim como a exposição a agentes tóxicos, como xenobióticos ou radiação, pode aumentar a produção de ERO (SIES, 1997). O estresse oxidativo está envolvido em diversas doenças como doenças neurodegenerativas, tais como a doença de Huntington, Alzheimer, Parkinson e em outras patologias como diabetes e isquemia/reperfusão (ADIBHATLA; HATCHER, 2008; HALL; BRAUGHLER, 1993; VALKO et al., 2007), além de estar envolvido no envelhecimento (MAHER, 2005).

ERO atacam ácidos graxos poliinsaturados levando a formação de cascatas de lipoperoxidação (Figura 5), sendo formados radicais lipídicos (LOO^{\bullet}) que podem abstrair elétrons dos fosfolipídios adjacentes perpetuando o processo. Como produtos finais dessa cascata são formados aldeídos eletrofílicos altamente reativos, incluindo malondialdeído (MDA) e 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE), que são os produtos mais abundantes. Neste processo também é formada a acroleína que é um produto muito reativo (ESTERBAUER; SCHAUR; ZOLLNER, 1991; LOIDL-STAHLMHOFEN; HANNEMANN; SPITELLER, 1994; PRYOR; PORTER, 1990). Estes produtos finais da peroxidação lipídica são comumente utilizados como índices de danos oxidativos às membranas. De muita relevância, um dos métodos mais utilizados para a detecção de peroxidação lipídica é o ensaio das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), na qual reage fortemente com MDA. Esse ensaio é amplamente utilizado na literatura,

e um aumento neste marcador se correlaciona com diversas patologias como, por exemplo, isquemia/reperfusão e doenças neurodegenerativas (KUMAR et al., 2012; PANDEY et al., 2011; VALKO et al., 2007). Um ponto fraco deste método, é que ele não é específico para MDA e pode apresentar falsos positivos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

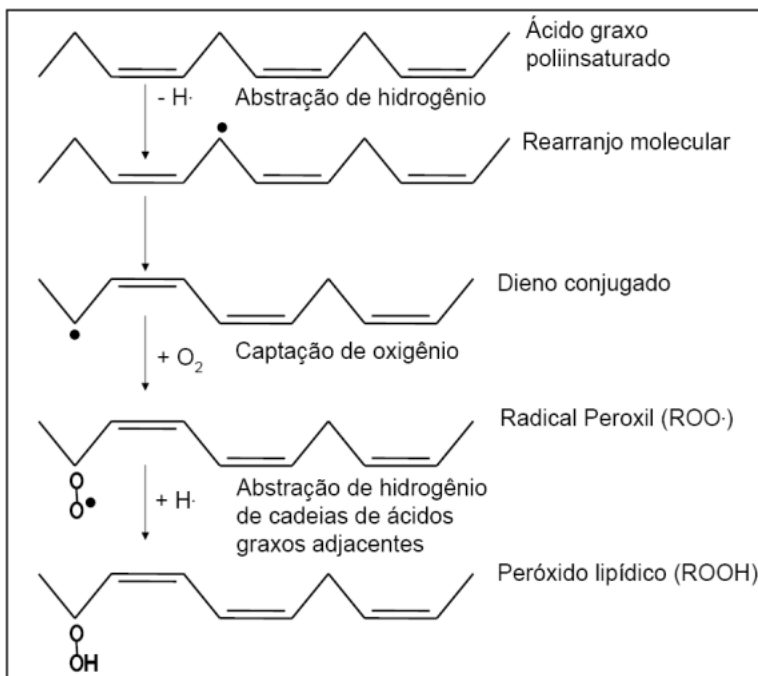


Figura 5. Cascata de peroxidação lipídica

A abstração de um elétron de um ácido graxo poliinsaturado leva a formação de um dieno conjugado. Este pode reagir com uma molécula de O_2 formando um radical peroxil, que pode abstrair elétrons de outros ácidos graxos poliinsaturados, continuando uma reação em cadeia. Adaptado de HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007.

O estresse oxidativo também causa dano aos ácidos nucleicos, incluindo a fragmentação do DNA, que consiste em quebras nas fitas simples e duplas do DNA. A quebra dupla da fita do DNA é irreversível (CHEN et al., 1997; GAVRIELI; SHERMAN; BEN-SASSON, 1992), já a quebra simples da fita é reversível e pode ser corrigido por mecanismos de reparo do DNA (LIU et al., 1996). Há ainda uma gama enorme de modificações oxidativas, chamadas de danos oxidativos ao DNA, levando a modificação de bases nitrogenadas. A modificação de base mais comumente conhecida, e também usada como indicador de dano oxidativo ao DNA, é a 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG).

Proteínas também podem ser alvo de danos causados pelas ERO. $O_2^{\bullet-}$ pode oxidar centros de Fe/enxofre de proteínas, inativando sua função e contribuindo para o aumento de Fe^{2+} livre na célula (IMLAY, 2003). H_2O_2 pode oxidar tióis de proteínas, alterando sua estrutura e por consequência modificando sua função. Oxidações de proteínas catalisadas por metais também podem ocorrer, oxidando preferencialmente resíduos de prolina, arginina ou lisina, formando grupos carbonilas (UTRERA; ESTÉVEZ, 2013). Assim, o aumento dos grupos carbonilas é associado ao dano oxidativo às proteínas, podendo ser usado como um marcador de estresse oxidativo.

Da mesma forma que as ERO, o desequilíbrio das ERN também está envolvida em diversas patologias. A produção exacerbada de NO pode gerar o chamado estresse nitrosativo, podendo, da mesma forma, produzir alterações em macromoléculas (RIDNOUR et al., 2004). O NO é produzido pela enzima óxido nítrico sintetase (NOS), que pode ter sua expressão aumentada sob condições fisiológicas e patológicas (BAYIR et al., 2007). O NO também pode reagir rapidamente com o $O_2^{\bullet-}$ para

formar o peroxinitrito (ONOO⁻). O ONOO⁻ é uma molécula altamente reativa, que tem um papel central como mediador de danos oxidativos em uma gama de neuropatologias. O peroxinitrito pode oxidar resíduos de tirosina gerando 3-nitrotirosina (3-NT). O aumento de nitração de proteínas é um marcador seletivo de dano mediado por peroxinitrito, sendo que este marcador está aumentado em diversas patologias (CARR; MCCALL; FREI, 2000).

1.3.2 - Defesas antioxidantes

A constante produção de ERO na célula é acompanhada da sua neutralização pelas defesas antioxidantes. Dessa forma, a célula sempre se encontra com níveis basais de ERO. A enzima SOD remove de maneira muito eficiente o radical $O_2^{\bullet -}$ produzido pelo metabolismo celular, formando H_2O_2 no processo. Ela é encontrada em duas isoformas: a superóxido dismutase cobre/zinco (Cu/Zn-SOD) encontrada no citosol, e a superóxido dismutase manganês (MnSOD) encontrada na mitocôndria. As duas isoformas utilizam o metal em seu centro catalítico para realizar as reações redox, Cu^{2+} no caso da citoplasmática e Mn^{2+} no caso da mitocondrial. Esses metais são reduzidos por $O_2^{\bullet -}$, liberando oxigênio molecular. Em seguida, eles doam um elétron para outra molécula $O_2^{\bullet -}$, liberando H_2O_2 e retornando ao seu estado ativo (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). O H_2O_2 liberado por essa reação precisa ser neutralizado, e esse processo é feito por três enzimas principais: a catalase, GPx e Prx.

A catalase é uma enzima formada por quatro subunidades, sendo que cada uma contém um grupo heme. O Fe^{2+} nesse grupo heme é

responsável pela sua capacidade óxido-redutora, na qual catalisa a redução do H_2O_2 em $\text{H}_2\text{O} + \frac{1}{2} \text{O}_2$ (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Essa enzima possui uma taxa de reação extremamente alta ($1,7 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$), porém sua afinidade pelo H_2O_2 é baixa. Além disso, essa enzima se localiza quase exclusivamente nos peroxissomos, sendo sua ação restrita a esse local. Apesar disso, ela é de extrema importância em proteger as células contra altas concentrações de H_2O_2 (DRINGEN et al., 2005). Ao contrário das GPx e das Prx, a catalase degrada semente peróxidos de hidrogênio, não tendo efeito sobre peróxidos orgânicos.

A capacidade de "tamponamento" dessas espécies também depende de 2 sistemas antioxidantes importantes: o sistema da GSH (Figura 6) e da Trx. A GSH é o tiol não proteico mais abundante nas células de mamíferos, e devido a sua grande capacidade redutora, é reconhecido como maior "tampão redox" (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Sua produção é feita no citosol pela ação de duas ATPases. A glutamato-cisteína ligase (GCL) liga o glutamato à cisteína com uma ligação peptídica incomum, no carbono gama (γ) do glutamato. A segunda e última reação depende da enzima glutathione sintetase, que liga uma glicina a γ -glutamil-cisteína para formar o tripeptídeo glutathione, γ -glutamil-cisteinil-glicina ou GSH (SIES, 1997). A concentração de GSH varia de acordo com o tipo de célula. Em células neurais de mamíferos encontramos cerca de 1-2 mM, enquanto no fígado esse valor pode chegar a 10 mM (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; VALKO et al., 2007). A GSH é encontrada em todos os compartimentos celulares. Na célula a GSH possui uma gama de funções, participando do transporte de aminoácidos através da membrana plasmática, além de participar de reações enzimáticas que

regeneram o ácido ascórbico e o α -tocoferol para suas respectivas formas ativas (MEISTER, 1994; VALKO et al., 2007).

O papel protetor da GSH na manutenção da homeostase redox ocorre por 2 processos principais: a neutralização direta de $\cdot\text{OH}$ e outros oxidantes, ou por servir como cofator para diversas enzimas antioxidantes. A GPx utiliza a GSH para degradar peróxidos orgânicos e H_2O_2 . A glutationa oxidada (GSSG) é o produto formado pela oxidação da GSH, que é o doador de elétrons na reação catalisada pela GPx. As 4 isoformas mais importantes de GPx encontradas em mamíferos possuem selênio no seu sítio ativo. Tanto a GPx 1 citosólica, quanto a GPx 4 que é encontrada em membranas, são importantes em manter os níveis de peróxidos intracelulares em concentrações não tóxicas. O *knock-down* dessas isoformas deixam as células mais vulneráveis a ataques oxidativos (CHENG et al., 1997; FARINA et al., 2009; YANT et al., 2003). A falta de GPx 4 ainda aumenta a peroxidação lipídica e agregação de β -amilóide em cultura de neurônios, reforçando a ideia de que o estresse oxidativo participa em doenças neurodegenerativas (CHEN et al., 2008).

O acúmulo de GSSG pode gerar efeitos deletérios para a célula, sendo necessário regenerar a sua forma reduzida (GSH). O acúmulo de GSSG geralmente é um indicativo da perturbação da homeostasia redox e a relação entre a GSH/GSSG se mantém alta ($\sim 100/1$) em condições fisiológicas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; MAHER, 2005). A enzima glutationa redutase (GR) é responsável por catalisar essa reação de redução do GSSG, que é dependente de elétrons provenientes do NADPH. Quando a eficiência catalítica da GR é comprometida, reduzindo a taxa de regeneração de GSH, a capacidade de detoxificação

de peróxidos pela célula também diminui, deixando-a mais suscetível a danos oxidativos (BISHOP; DRINGEN; ROBINSON, 2007; DRINGEN; PAWLOWSKI; HIRRLINGER, 2005; MITOZO et al., 2011).

A glutatona também é usada pela glutatona S-transferase (GST) na reação de conjugação com uma enorme gama de moléculas eletrofílicas. A conjugação com GSH geralmente reduz a sua toxicidade destas moléculas e facilita sua exportação para fora da célula. A função da glutatona S-transferase é muito importante na proteção da célula contra xenobióticos, pesticidas, etc. (DOURADO; FERNANDES; RAMOS, 2008).

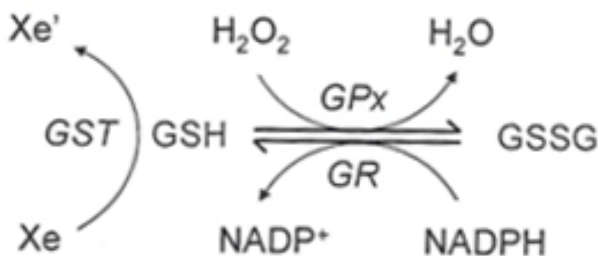


Figura 6. Metabolismo da glutatona

A GSH é utilizada em diversas reações, tais como a detoxificação de xenobióticos catalisada pela GST, ou a degradação de peróxidos catalisada pela GPx, gerando GSSG. A GSSG é reduzida pela GR utilizando o NADPH como doador de elétrons. Adaptado de LOW, 2007.

O sistema da Trx compreende o NADPH, Trx e TrxR e também está envolvido na manutenção do ambiente redox celular (HOLMGREN; LU, 2010; LU; HOLMGREN, 2012). Junto com o

sistema da GSH, ela mantém o ambiente intracelular reduzido e é crucial para a defesa contra o estresse oxidativo. Além disso, a Trx também serve como doador de elétrons para a ribonucleotídeo redutase, sendo importante na síntese de DNA. Na célula são encontradas 2 isoformas da tiorredoxina: a Trx 1 no citoplasma e a Trx2 na mitocôndria, ambas proteínas pequenas (12 e 18 kDa) e com duas cisteínas no seu sítio ativo. As Trxs ainda podem doar elétrons para peroxidases denominadas peroxirredoxinas (Prx). Essas atuam em conjunto com as GPx protegendo as células contra uma gama de peróxidos e peroxinitrito.

2- JUSTIFICATIVA

Condições neuropatológicas agudas, incluindo o TCE e o traumatismo raquimedular, estão entre as principais causas de morte e deficiências neurológicas motoras e cognitivas no mundo, especialmente em crianças e adultos jovens. As principais causas destas lesões são acidentes automobilísticos, ferimento por arma de fogo, acidentes durante atividades recreativas, quedas e agressões físicas. Nos Estados Unidos, a cada ano cerca de 1,7 milhões de pessoas procuram cuidados médicos por algum tipo de ferimento na cabeça. Cerca de cinquenta e duas mil dessas pessoas vão morrer, enquanto o mesmo número apresentará alguma incapacidade funcional permanente (CORONADO et al., 2011). Considerando a alta prevalência dessas condições patológicas agudas em todo o mundo, a investigação sobre os mecanismos subjacentes aos danos do sistema nervoso central é de extrema importância.

As ERO são altamente lesivas e participam de muitas doenças que afetam o sistema nervoso central, incluindo a doença de Parkinson, Alzheimer, esclerose lateral amiotrófica e esclerose múltipla (ADIBHATLA; HATCHER, 2008). As ERO também são importantes desencadeadoras para a lesão secundária do trauma e são produzidas precocemente após o TCE. Muitos processos de lesão secundária como excitotoxicidade, neuroinflamação, levam à produção de ERO, que por sua vez, formam um *feedback positivo* que aumenta a atividade destes processos lesivos (KONTOS; POVLISHOCK, 1986; PUN; LU; MOOCHHALA, 2009).

Níveis excessivos de radicais livres podem danificar todos os componentes da célula, incluindo proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos, e lipídios, inibindo sua função e eventualmente levando a morte celular (HALL; BRAUGHLER, 1993). O cérebro é particularmente vulnerável às EROS, porque ele contém altas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados, que são facilmente danificados pelo estresse oxidativo (BRAUGHLER; HALL, 1989; HALL; BRAUGHLER, 1989). Além disso, o cérebro tem menores níveis de antioxidantes do que outros órgãos (ADIBHATLA; HATCHER, 2008). Os neurônios são especialmente vulneráveis ao dano oxidativo devido possuírem níveis de glutathione menores do que outros tipos de células do sistema nervoso central (DRINGEN; GUTTERER; HIRRLINGER, 2000).

Tendo em vista o grande impacto social causado por esta patologia, e não haver uma plena compreensão dos mecanismos de danos envolvidos é necessário uma análise mais detalhada sobre como o estresse oxidativo pode se correlacionar com o TCE.

3 - OBJETIVOS

Revisar a literatura e esclarecer qual é a correlação entre os dados envolvendo o estresse oxidativo e o traumatismo cranioencefálico, visando contribuir com novas perspectivas para a área.

Os objetivos específicos consistem em usar dados da literatura para responder as seguintes perguntas:

- O estresse oxidativo está relacionado com o TCE?
- Marcadores de peroxidação lipídica são efetivos na avaliação e prognose no TCE?
- Quais estratégias antioxidantes estão sendo investigadas no TCE e qual é sua eficácia?
- Quais as perspectivas para o uso de marcadores relacionados ao estresse oxidativo e de antioxidantes na prognose e tratamento do TCE?

4 - METODOLOGIA

As referências indexadas no *Pubmed* (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) até 30/08/2013 foram obtidas sem filtros a partir do cruzamento *traumatic brain injury* com *oxidative stress*, resultando em 289 resumos, dos quais 67 são artigos de revisão, obtendo 222 resumos de artigos experimentais. Em uma busca adicional foram encontrados, a partir do cruzamento de *head injury* e *oxidative stress*, 56 resumos, dos quais 17 são artigos de revisão e 39 experimentais. Além destas duas buscas, foram realizados os seguintes cruzamentos: *traumatic brain injury* com *Nrf2* (21 resumos), *antioxidant* (364 resumos), *glutathione* (77 resumos), *flavonoid* (18 resumos) que complementaram a base de dados. Levando em consideração a sobreposição de tópicos dos cruzamentos e a exclusão dos artigos que não tinham nenhuma relação com o tema (outras patologias que não o TCE) e a exclusão dos artigos que não estavam disponíveis em português ou inglês, a busca resultou em 278 artigos, os quais foram divididos em estudos pré-clínicos (247) e clínicos (31). Esta base de dados foi filtrada focada nos objetivos específicos, e assim, os dados mais relevantes são apresentados a seguir.

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como mencionado anteriormente, diversas cascatas fisiopatológicas promovem danos secundários ao TCE. Diversos autores apontam que o estresse oxidativo tem uma grande participação nesses processos promovendo dano e morte celular. Diversos modelos animais reforçam a participação das ERO no dano causado por TCE. Após TCE, os níveis de $O_2^{\cdot-}$ microvascular aumentam dentro dos primeiros minutos ou horas, sendo que diversas fontes podem desencadear essa formação, como auto-oxidação de aminas neurotransmissoras, cascatas de oxidação do ácido araquidônico e xantina oxidase (CORNELIUS et al., 2013). Micróglia e macrófagos recrutados para o local da lesão podem aumentar ainda mais a formação do superóxido no local. A acidose proveniente da perturbação do metabolismo energético cerebral acaba liberando Fe^{2+} por proteínas quelantes como ferritina e metalotioneínas, podendo levar a uma maior formação de $\cdot OH$ pela reação de Fenton. Hemorragias intraparenquimatosas ou subaracnóidea decorrente do trauma também podem gerar o estresse oxidativo, uma vez que a hemoglobina, quando oxidada por H_2O_2 , pode liberar o Fe^{2+} (CHANG et al., 2005; POTTS et al., 2006). A via caliceína-cinina é uma das primeiras vias ativadas após a lesão tecidual. Ela leva a formação de bradicinina capaz de ativar a fosfolipase A2, liberando o ácido araquidônico da membrana plasmática. O subsequente metabolismo do ácido araquidônico gera ERO (TRABOLD et al., 2010). A bradicinina é uma citocina participante do recrutamento de neutrófilos que pode resultar na geração de ERO. O influxo de cálcio promovido pela bradicinina também pode ativar a NOS que gera NO podendo ser outra

fonte de radicais livres (Figura 7) (PUN; LU; MOOCHHALA, 2009; TRABOLD et al., 2010).

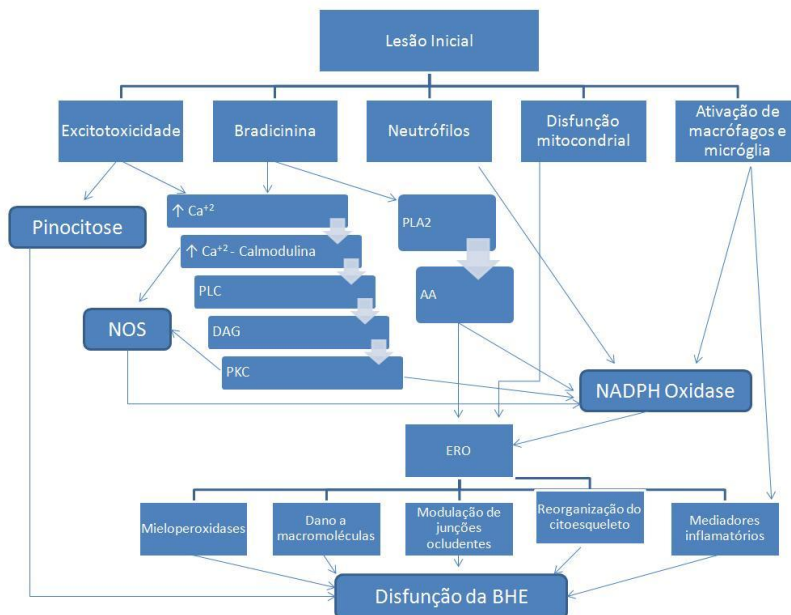


Figura 7. Produção de ERO no TCE

A lesão inicial promove disfunção mitocondrial que é a grande responsável pela geração de ERO. Tanto geração da bradicinina secundária à lesão tecidual, quanto à excitotoxicidade podem promover o influxo de cálcio que ativa as enzimas NOS e NADPH oxidase, gerando ERO. A liberação do ácido araquidônico das membranas pela fosfolipase 2 também pode levar a formação de ERO, pelo próprio metabolismo do ácido araquidônico ou por intermédio da ativação da enzima NADPH oxidase. Macrófagos e ativação da glia também podem participar da geração de ERO por intermédio da ativação da NADPH oxidase. As ERO através da ativação de mieloperoxidases, dano a macromoléculas, modulação de junções ocludentes, reorganização do citoesqueleto, entre outros, alteram a permeabilidade da BHE. Adaptado de PUN; LU; MOOCHHALA, 2009. PLC=fosfolipase C, DAG=diacilglicerol, PKC=proteína quinase C, PLA2=fosfolipase A2, AA=Ácido Araquidônico

Em modelos de TCE, em ratos, observa-se um aumento na produção de ERO *in vivo* na primeira hora após o trauma, confirmando que a formação dessas espécies pode ser um evento precoce (AWASTHI et al., 1997). Outro trabalho *in vivo*, com modelos de TCE em ratos, também mostra que há depleção de GSH e ascorbato logo após o trauma, sugerindo que a homeostasia redox pode estar sendo comprometida durante o TCE (HARRIS et al., 2012). A xantina oxidase promove a degradação de xantina a hipoxantina, produzindo H_2O_2 no processo. De fato, a atividade desta enzima está aumentada em cérebros pós-trauma, tendo um pico de atividade após 2h, porém se mantendo alto até 24h. No TCE, o aumento da atividade desta enzima se correlaciona com o aumento na peroxidação lipídica (SOLAROGLU et al., 2005).

Interessantemente, o TCE pode desencadear dano oxidativo sistêmico. De tal forma, marcadores do estresse oxidativo em modelos animais de TCE foram encontrados em vários órgãos como pulmão, intestino e coração (SELAKOVIĆ et al., 2001; SHOHAMI et al., 1999). Larson e colaboradores demonstraram, em modelo de TCE em ratos, que os níveis de ERO estão elevados no coração (LARSON et al., 2012). Da mesma forma, demonstrou-se que lesão por TCE promove alterações nos níveis de saturação de oxigênio, débito cardíaco e anormalidades vasculares estudado em modelo animal de TCE. Essas alterações são concomitantes com perdas nas viabilidades neuronais e gliais, e se correlacionam com o aumento dos níveis de 4-HNE no sangue (AHMED et al., 2013).

Um achado interessante, encontrado em modelos animais, é que níveis mais elevados de radicais livres são encontrados em cérebros de

ratos idosos quando comparados a jovens, resultando em pior desfecho cognitivo após TCE (ITOH et al., 2013). Os ratos idosos possuem defesas antioxidantes mais debilitadas em relação aos ratos mais jovens. Então, é possível que o estresse oxidativo seja a justificativa para o pior desfecho que ocorre no TCE em razão da idade (MOOR et al., 2006; SHAO et al., 2006).

5.1 - Cálcio e disfunção mitocondrial

A disfunção mitocondrial é um evento precoce na fisiopatologia do TCE, ocorrendo simultaneamente com a produção de ERO dentro dos primeiros minutos após a lesão (KOCHANNEK et al., 2013; PANDYA; PAULY; SULLIVAN, 2009; PANDYA et al., 2007). No TCE, várias proteínas envolvidas no metabolismo bioenergético mitocondrial podem ser modificadas oxidativamente. Opii e colaboradores demonstram uma redução na atividade da enzima piruvato desidrogenase, complexo 1 e complexo 4 mitocondriais, 3 horas após lesão por TCE. Estas alterações comprometem a produção de energia pela célula. Além disso, foi observado, através de uma análise proteômica, que diversas enzimas envolvidas no metabolismo energético mitocondrial estavam oxidadas após TCE, incluindo piruvato desidrogenase, citocromo C oxidase, enolase-1, gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, ATP sintetase (OPII et al., 2007). Diferenças na expressão de proteínas relacionadas ao metabolismo energético mitocondrial também estão envolvidas na fisiopatologia do TCE. Em ratos, foi observada uma diminuição no RNA mensageiro da citocromo

C oxidase, enzima essencial para a respiração celular (DAI et al., 2009). Estes achados demonstram a importância das ERO em promover danos oxidativos às proteínas e na disfunção mitocondrial (DENG-BRYANT et al., 2008).

A peroxidação lipídica pode ser um importante mediador de danos mitocondriais no TCE. Após TCE houve uma diminuição na função mitocondrial e na capacidade de tamponamento de Ca^{2+} em mitocôndrias, sendo acompanhado por um aumento na peroxidação lipídica e na nitração de proteínas (MUSTAFA et al., 2010). A administração de U-83836E, um *scavenger* de radicais peroxila, 15 min. após o dano, porém, atenuou os danos mitocondriais. Além de diminuir a formação de radicais peroxila, também reduziu a nitração de proteínas, demonstrando que peróxidos lipídicos podem facilitar o processo de nitração de proteínas mitocondriais.

A nitração de proteínas pode interferir com o funcionamento normal da mitocôndria. Foi relatado nitração da enzima MnSOD após o TCE (BAYIR et al., 2007). Essa nitração resultou na diminuição da atividade dessa enzima, o que poderia acentuar os danos oxidativos na mitocôndria. É interessante observar que a inibição ou o *knockout* da enzima nNOS (NOS neuronal) diminuiu a nitração da MnSOD, enquanto a inibição da eNOS (NOS endotelial) ou iNOS (NOS indutível) não teve esse efeito, sugerindo que essa nitração é proveniente do acúmulo de peroxinitrito produzido no ambiente intracelular, e não do meio extracelular produzido pela inflamação (BAYIR et al., 2007).

O estresse oxidativo proveniente do TCE tem sido associado à abertura dos poros de transição de permeabilidade mitocondrial (READNOWER et al., 2011). Existe uma correlação entre a transição de

permeabilidade mitocondrial e o estresse oxidativo, podendo levar a cascatas de morte celular apoptótica. A inibição do poro de transição mitocondrial pela ciclosporina é capaz de melhorar funções neurológicas. Isso se deve a uma melhora na função mitocondrial e da redução de indicadores de dano oxidativo (4-HNE e 3-NT) que se estabelecem pós TCE em modelos animais (MBYE et al., 2008; READNOWER et al., 2010, 2011), reforçando o papel desse evento na morte neuronal por TCE.

5.2 - Estresse oxidativo e edema

No TCE, todo o microambiente envolvido na barreira hematoencefálica (neurônios, células endoteliais, astrócitos) pode ser afetado pela cascata de dano secundário. Dentre as ERO produzidas devido ao trauma, parece que o $O_2^{\bullet -}$ tem um papel fundamental na disfunção da BHE. O aumento nos níveis de $O_2^{\bullet -}$ microvascular, em modelo de trauma, já foi detectado (CORNELIUS et al., 2013). Inibidores da NADPH oxidase, um produtor de $O_2^{\bullet -}$, protegem contra a disfunção da BHE (KAHLES et al., 2007). O H_2O_2 é capaz de modular a permeabilidade endotelial por alterar a estrutura das junções ocludentes, podendo comprometer a função da BHE (KEVIL et al., 2000). A inibição da xantina oxidase também diminuiu a formação de edema em modelos de isquemia cerebral, reforçando o papel das ERO neste processo (ITOH et al., 1986).

O tratamento com γ -glutamilcisteína etil éster, um precursor de GSH, 10 minutos após o trauma, reduziu a permeabilidade da BHE, em

modelo de TCE em camundongos (LOK et al., 2011). Estes resultados sugerem que a GSH é importante para a manutenção da integridade da BHE. A administração de etanol, que causa estresse oxidativo no cérebro, aumentou o edema cerebral e mortalidade por TCE. O tratamento com o antioxidante N-acetilcisteína (NAC), porém, atenuou o aumento dos marcadores de estresse oxidativo, a mortalidade e o volume de edema 24h pós TCE em ratos pré-tratados com etanol (KATADA et al., 2009).

Sabe-se que o edema cerebral não é ocasionado somente pela quebra da BHE. A lesão mecânica direta em culturas de astrócitos, por exemplo, provoca edema celular. O bloqueio do estresse oxidativo ou nitrosativo, pelo uso de diversos antioxidantes reduz este efeito (JAYAKUMAR et al., 2008), sugerindo que o estresse oxidativo tem papel fundamental neste processo.

5.3 - Marcadores de estresse oxidativo no TCE - dados pré-clínicos

Marcadores bioquímicos podem ser analisados a partir do soro ou sangue total. A desvantagem desta abordagem inclui a falta de especificidade para o tecido cerebral, alta variabilidade na dimensão da quebra da BHE, e a baixa sensibilidade no trauma precoce. Alternativamente, pode-se avaliar marcadores líquóricos que podem ser mais específicos ao tecido do SNC e sensíveis à lesão precoce, embora seja mais invasiva e com menor aplicabilidade na prática médica. Outra opção seria a aferição do fluido intersticial do parênquima por microdiálise. Entretanto, a padronização dos marcadores para esse

método ainda não está bem definida. Uma abordagem racional para a identificação de marcadores sanguíneos e líquidos seria avaliar os processos bioquímicos já conhecidos por possuírem papel relevante na lesão do SNC. Dentre estes estão incluídos os marcadores de inflamação, ativação glial, disfunção neuronal, e estresse oxidativo (SHARMA; LASKOWITZ, 2012).

Marcadores de TCE podem revelar o dano estrutural do cérebro, mas também são marcadores das cascatas de lesão secundária. O TCE promove alterações genômicas, proteômicas e lipidômicas; estresse oxidativo, disfunção dos neurotransmissores, falência mitocondrial (KOCHANNEK et al., 2008). Desta forma, biomarcadores do TCE também podem nortear estratégias terapêuticas para atenuar a lesão cerebral secundária e as sequelas a longo prazo. Essas abordagens também podem ajudar a aumentar o valor preditivo, que pode servir como diretriz para reduzir o desfecho negativo (SANDLER; FIGAJI; ADELSON, 2010). A detecção de biomoléculas modificadas oxidativamente poderia ser usada como um marcador para demonstrar a extensão do dano celular ou das alterações nas cascatas de dano secundário e de reparo (HILLERED; VESPA; HOVDA, 2005; TAVAZZI et al., 2005).

Conforme demonstrado no Quadro 4, os marcadores de estresse oxidativo mais avaliados em modelos de TCE são os marcadores de peroxidação lipídica. Todos os estudos elencados neste quadro, que avaliaram esse parâmetro, demonstraram de forma unanime que em algum momento pós-trauma os marcadores de peroxidação lipídica estão elevados. Desta forma, estes dados nos sugerem que há uma forte relação do estresse oxidativo com os eventos secundários que estão

ocorrendo pós TCE. De fato, a maior parte dos estudos que analisam os danos oxidativos a lipídeos em modelos animais encontram uma correlação entre esse parâmetro com danos cognitivos, instalação de edema e volume de lesão. Estes dados sugerem que o dano aos lipídeos das membranas biológicas possa ser um evento importante nessa patologia (ATES et al., 2007; KHAN et al., 2011, p. 20).

A peroxidação dos lipídeos de membrana pode alterar a função da membrana, modificando sua fluidez e permeabilidade, além de processos metabólicos e transporte iônico (ADIBHATLA; HATCHER, 2008). Danos às membranas mitocondriais também podem aumentar a produção de ERO, além de gerar a disfunção mitocondrial. Nos trabalhos analisados, fica claro que os danos aos lipídeos de membrana no cérebro é um evento precoce, sendo verificados aumentos nos níveis de MDA e 4-HNE a partir de 30 min. após o trauma, e se mantendo elevados até 72 h após a lesão (JI et al., 2010; SOLAROGLU et al., 2005; SULLIVAN et al., 1998).

O sistema da glutatona tem uma importância crucial na manutenção da homeostasia redox e proteção contra estresse oxidativo. Existem evidências indicando que o sistema da glutatona pode estar comprometido durante o TCE. Com base no Quadro 4, pode-se constatar que os níveis de GSH tem uma tendência a queda no pós TCE (KOCHANNEK et al., 2013; TSAI et al., 2011). É de se esperar que em um estado de estresse oxidativo elevado, documentado pelos níveis de MDA, 4-HNE, exista um consumo das defesas antioxidantes o que justificaria esse achado. A formação de peróxidos lipídicos ainda pode aumentar o consumo de GSH através da metabolização desses por enzimas como a GPx e GST. Apesar disso, existem dados divergentes

onde não foram encontradas alterações nos níveis de GSH no TCE. Então, essa característica parece depender do modelo, severidade e espécie utilizada. A maioria das pesquisas realizadas em camundongos, por exemplo, não apresentaram diferenças nos níveis de GSH, ao contrário de ratos, em que se demonstrou que há uma diminuição destes níveis (BLASIOLE et al., 2013; DEGHAN et al., 2013; HOMSI et al., 2009; KOCHANNEK et al., 2013; LOMNITSKI et al., 1999) .

Tenta-se com base no Quadro 4 correlacionar a atividade das principais enzimas antioxidantes CAT, SOD e GPx com o trauma. Porém, a atividade destas enzimas apresentou dados divergentes, sofrendo aumento em alguns casos, reduções em outros, ou ainda permaneceram inalteradas. Foram estudados diversos tempos e diversos modelos animais, o que poderia explicar estas discrepâncias. Desta forma, não se consegue estabelecer um perfil de comportamento da atividade enzimática no pós-trauma.

Outros marcadores de dano oxidativo também foram avaliados em modelos animais. As lesões oxidativas ao DNA também ocorrem de maneira extremamente precoce. Em modelos animais, o aparecimento de 8-OHdG, marcador de lesão oxidativa no DNA, ocorre nos primeiros 15 min. após o trauma, demonstrando que as ERO provenientes do TCE podem interferir na integridade do DNA (MENDEZ et al., 2004). Em contrapartida, a administração de edaravone, um antioxidante, mostrou ser capaz de bloquear a lesão ao DNA, o que resultou em melhora em testes comportamentais (MIYAMOTO et al., 2013; OHTA et al., 2013; WANG et al., 2011).

Foi demonstrado que após um TCE leve, ratos apresentavam aumento na carbonilação proteica, um outro marcador de estresse

oxidativo. Esse evento se correlacionou com o mau desempenho em provas comportamentais, (teste do labirinto aquático de Morris), acompanhada pela redução dos níveis do fator neurotrófico BDNF. Tais efeitos foram neutralizados pela administração do antioxidante vitamina E, mostrando que dano oxidativo a proteínas pode ter um papel fundamental na morte neuronal por TCE (WU; YING; GOMEZ-PINILLA, 2010). Evidências também apontam a participação do peroxinitrito na fisiopatologia do TCE. Diversos trabalhos mostram um aumento em marcadores de nitratação proteica, como 3-nitrotirosina, tão precoce quanto 1h após o TCE (Orihara et al., 2001; Deng et al., 2007).

Em contrapartida, Petronilho e colaboradores, demonstraram que os níveis de carbonilação proteica e peroxidação lipídica em diferentes partes do cérebro estavam aumentados no TCE leve. No caso do TCE severo, porém, não estavam alterados, ou estavam diminuídos, concluindo que o estresse oxidativo é inversamente proporcional a severidade do trauma (PETRONILHO et al., 2010). Esses resultados foram corroborados por Schwarzbald e colaboradores, que demonstram que os danos oxidativos não se correlacionam completamente com o grau da severidade do trauma (SCHWARZBOLD et al., 2010).

Dessa forma, parece que o estresse oxidativo ocorre simultaneamente em várias condições durante e após o trauma, mas sua implicação com a gravidade e desfecho ainda não é muito bem compreendida. Apesar de todas as evidências indicarem um papel central das ERO nas cascatas de dano secundário, a real implicação delas para a morte neuronal ainda não está bem clara. Apesar dos danos oxidativos não se correlacionarem diretamente com a severidade do

trauma, é possível que uma alteração na sinalização redox da célula, e não o dano direto das ERO, esteja direcionando para esse desfecho.

Quadro 4. Correlação da peroxidação lipídica com o TCE em modelos animais

Modelo (Animal)	Lipoperoxidação (Local)	GSH (Local)	Enzimas antioxidantes	Principais achados	Referência
Queda de peso (rato)	↑ TBARS no cérebro	X	X	O TCE causou déficits neurológicos vistos pelo teste do <i>rotarod</i> e teste do plano inclinado. Curcumina reverteu estes efeitos.	(SAMINI et al., 2013)
Explosão (rato)	↑ 4-HNE no sangue	X	X	Foram encontradas alterações na saturação de O ₂ e débito cardíaco. O estresse oxidativo é semelhante em animais com um único ou múltiplos eventos de TCE, porém a inflamação foi maior no TCE múltiplo.	(AHMED et al., 2013)
Queda de peso (rato)	↑TBARS no cérebro	X	↓GPx ↓ SOD cérebro	TCE aumentou edema e a permeabilidade da BHE. O tratamento com melatonina atenuou estes efeitos, diminuindo lipoperoxidação e aumentando da atividade SOD e GPx.	(DEHGHAN et al., 2013)

Impacto cortical controlado (rato)	↑ 4-HNE no cérebro	X	X	TCE provocou aumento na carbonilação de proteínas, 8-OHdG e 4-HNE. Ratos <i>knockout</i> para Nrf2 ^{-/-} tiveram maior elevação neste marcadores quando comparados aos animais selvagens.	(CHENG et al., 2013)
Impacto cortical controlado (rato)	↑ TBARS e 8- <i>iso</i> -PGF2α no cérebro	X	↓SOD ↓CAT cérebro	Tratamento com sulfito de hidrogênio reduziu o edema cerebral, a permeabilidade da BHE e os déficits motores. O tratamento também restaurou a atividade das enzimas antioxidantes e reduziu a peroxidação lipídica no cérebro.	(JIANG et al., 2013)
Impacto controlado pneumático (rato)	↑TBARS no cérebro	X	X	O flavonóide picnogenol diminuiu a lipoperoxidação no cérebro que foi acompanhada de uma reversão do dano em proteínas sinápticas causada pelo TCE	(ANSARI; ROBERTS; SCHEFF, 2013)
Percussão de fluído seguido de convulsivante (rato)	↑TBARS no cérebro (Grupo com convulsivante)	Não alterou cérebro	↓SOD (grupo com convulsivante) cérebro	Exercício físico por si só aumentou os níveis de glutathione e reverteu o aumento nos níveis de TBARS e carbonilação proteica provocada pelo TCE. Estes efeitos não protegeram	(SILVA et al., 2013)

				contra a lesão neuronal	
Explosão (rato)	↑ 4-HNE no cérebro	↓ cérebro	X	Alterações na expressão de mediadores de neuroinflamação foram encontradas em conjunto com estresse oxidativo.	(KOCHANNEK et al., 2013)
Impacto cortical controlado (camundongo)	X	Não alterou cérebro	↑ MnSOD (grupo com ressuscitação hiperóxida) Cérebro	TCE e ressuscitação hiperóxida reduziram necessidades de reposição de fluidos, elevaram as tensões teciduais de O ₂ , mas produziram depleção do ascorbato e um aumento da inflamação.	(BLASIOLE et al., 2013)
Impacto cortical controlado (rato)	↑TBARS no cérebro	↓ cérebro	X	O tratamento com picnogenol, um flavonóide, atenuou a carbonilação proteica, peroxidação lipídica e nitratação de proteínas, reduziu a perda de proteínas sinápticas, e reduziu os níveis de citocinas inflamatórias.	(SCHEFF; ANSARI; ROBERTS, 2013)
Queda de peso (rato)	↑MDA no cérebro	X	↓SOD ↓GPx Cérebro	A administração de sulfato de mercaptano, que tem propriedades antioxidantes, levou a diminuição nos níveis de MDA, e um aumento nas atividades SOD e GPx. Os níveis de	(YILMAZ et al., 2013)

				NO e NOS foram diminuídos, assim como, a lesão tecidual.	
Impacto cortical controlado (rato)	↑ 4-HNE no cérebro	X	X	Ratos idosos demonstraram maiores níveis de peroxidação lipídica (4-HNE), dano ao DNA (8-OHdG) quando comparados a ratos jovens, e isto foi correlacionado com maior perda tecidual na área circundante a lesão e piores resultados na memória espacial (no labirinto aquático de Morris).	(ITOH et al., 2013)
Percussão de Fluido (rato)	↑MDA no cérebro	X	X	A administração salina enriquecida em hidrogênio atenuou os níveis de MDA, alterações em moléculas relacionadas com a plasticidade neural e aprendizagem, melhorando resultados em provas funcionais como o labirinto aquático de Morris.	(HOU et al., 2012)
Impacto cortical controlado (rato)	↑MDA ↑ 8-iso-PGF2α no cérebro	X	↓CAT ↓SOD cérebro	A permeabilidade da BHE, o edema cerebral, o volume da lesão e a disfunção neurológicas (<i>beam walk</i>) foram atenuados pela infusão de salina enriquecida com hidrogênio. Estes	(JI et al., 2012)

				dados foram associados a uma diminuição de marcadores de lipoperoxidação e aumento da atividade de enzimas antioxidantes.	
Queda de peso (rato)	↑MDA no cérebro	X	↓SOD cérebro	O tratamento com saponinas do ginseng melhorou a função neurológica, reduziu o conteúdo de água e a perda neuronal no hipocampo, além de produzir aumento na atividade SOD e redução na atividade da NOS e nos níveis de peroxidação lipídica, atenuando a resposta inflamatória e apoptose.	(XIA et al., 2012)
Impacto cortical controlado (rato)	↑4-HNE no cérebro	X	X	NIM811, um inibidor do poro de transição de permeabilidade mitocondrial, análogo a ciclosporina, reduziu a disfunção mitocondrial, os níveis de peroxidação lipídica e de carbonilação proteica, assim como, induziu melhora no desempenho no teste de memória espacial (labirinto aquático de Morris).	(READNOWER et al., 2011)
Percussão de	↑ TBARS no cérebro	X	X	A suplementação com NAC protegeu	(SILVA et al.,

fluido e convulsivante (rato)				contra elevações na peroxidação lipídica, carbonilação proteica, inibição da bomba de Na/K ATPase e diminuiu as crises convulsivas em modelos de TCE associado a convulsivante.	2011)
Impacto cortical controlado (rato)	↑ TBARS no sangue ↑4-HNE no cérebro	↓ cérebro	X	O tratamento com nitrosoglutationa diminui a lipoperoxidação, reduzindo o peroxinitrito, a inflamação, e aumentando os níveis de GSH e NO, reduzindo as alterações de permeabilidade da BHE.	(KHAN et al., 2011)
Queda de peso (rato)	↑ MDA	X	X	Tratamento com edaravone reduziu concomitantemente a lipoperoxidação, a inflamação e a gliose reativa, reduzindo o edema e a morte neuronal.	(WANG et al., 2011)
Queda de peso (rato)	X	↓ cérebro	X	Tratamento com melatonina impede a redução dos níveis de glutathione, promove um aumento de moléculas supressores de citocinas pró inflamatórias.	(TSAI et al., 2011)
Percussão de	↑ MDA no cérebro	X	X	Hipotermia por injeção de salina 4°C	(KUO et al., 2011)

fluido (rato)				através da jugular reduziu os níveis de MDA e NO e aumentou os níveis de GPx, SOD e CAT. Melhorou ainda os resultado em provas como escalada de planos inclinados.	
Impacto cortical controlado (rato e camundongo)	↑ 4-HNE no cérebro	X	X	O tratamento com sulforafano reduziu o estresse oxidativo (peroxidação lipídica, carbonilação proteica e 8-OHdG). O tratamento aumentou os níveis das enzimas heme oxigenase 1, NADPH quinona óxido-redutase, associadas com maiores níveis de expressão de Nrf2, reduzindo a morte neuronal, o volume de contusão e a disfunção neurológica. O tratamento de camundongos <i>knockout</i> para Nrf2 com sulfurafano não apresetaram estes efeitos benéficos.	(HONG et al., 2010)
Explosão (rato)	↑ 4-HNE no cérebro	X	X	O estresse oxidativo (4-HNE e 3-NT), o aumento da permeabilidade da BHE, e ativação da glia ocorrem após TCE.	(READNOWER et al., 2010)
Impacto cortical controlado (rato)	↑MDA 24-72h ↑8- <i>iso</i> -PGF2α 6-72h	X	↑CAT 6h ↑SOD 6h ↓CAT 72h	A inalação de gás hidrogênio atenuou marcadores de lipoperoxidação,	(JI et al., 2010)

	no cérebro		↓SOD72h Cérebro	aumentou a atividade das enzimas CAT e SOD, e reduziu o aumento da permeabilidade da BHE, edema, perda tecidual e disfunção neurológica (<i>beam walk</i> e <i>beam balance</i>).	
Queda de peso intensidades diferentes (camundongo)	↑TBARS no cérebro	X	↑GPx ↑GR cérebro	O estudo com trauma de diferentes intensidades mostrou que uma maior elevação dos níveis peroxidação lipídica, e da atividade de GPx e GR ocorram no trauma intermediário em comparação com trauma grave. Mostraram ainda que os animais submetidos ao TCE leve apresentaram maiores distúrbios depressivos/ansiosos, enquanto os animais submetidos ao TCE intermediário e grave apresentaram maior comprometimento da memória, e alterações teciduais. Os animais submetidos ao TCE grave também apresentaram maior atividade motora	(SCHWARZBOLD et al., 2010)
Impacto cortical controlado (camundongo)	↑4-HNE no cérebro	X	X	U-83836E, um peroxil <i>scavenger</i> , atenuou a peroxidação lipídica e reduziu os níveis de 3-NT e do dano	(MUSTAFA et al., 2010)

				oxidativo mitocondrial.	
Queda de peso (rato)	↑ TBARS no cérebro	X	X	Discreto aumento no TBARS, porém as maiores alterações foram encontradas na carbonilação proteica no TCE leve, quando comparado ao TCE severo.	(PETRONILHO et al., 2010)
Queda de peso (camundongo)	X	Não alterou cérebro	X	O tratamento com minociclina pós TCE reduziu a inflamação, o edema, acompanhada por uma recuperação neurológica, mas não alterou os níveis de glutathione.	(HOMSI et al., 2009)
Percussão de fluido (rato)	↑MDA no cérebro	X	X	Trauma aumenta a peroxidação lipídica e o tratamento com piruvato desidrogenase atenuou este efeito	(SHARMA et al., 2009)
Impacto cortical controlado (camundongo)	X	X	↓GPx	Camundongos que "superexpressam" GPx, tiveram redução dos níveis de 3-NT, porém não houveram alterações teciduais. Mas também apresentaram melhores resultados no teste motor (<i>rotarod</i>) e de memória espacial (labirinto aquático de Morris).	(TSURU-AOYAGI et al., 2009)

Queda de peso (rato)	↑TBARS no sangue	↓ sangue	X	A administração de ácido α -lipóico reduziu a peroxidação lipídica e inflamação, aumentou os níveis de GSH e a atividade da bomba Na^+/K^+ ATPase, bem como a atividade de enzimas mieloperoxidases, além de produzir uma diminuição da permeabilidade da BHE e redução em alterações histológicas.	(TOKLU et al., 2009)
Percussão de fluido (rato)	↑TBARS no cérebro	X	X	O exercício físico atenuou a peroxidação lipídica, a carbonilação proteica e eliminou a inibição da Na/K ATPase.	(LIMA et al., 2009)
Impacto Cortical Controlado (camundongo)	X	X	GPx não alterou cérebro	Não houve diferenças na expressão de GPx, tanto em animais selvagens quanto deficientes na enzima <i>GPx</i> . A neurogênese foi reduzida nos camundongos submetidos ao trauma	(POTTS et al., 2009)
Percussão de fluido (rato)	↑TBARS no cérebro	X	X	Após o trauma houve aumento da peroxidação lipídica, carbonilação de proteínas e diminuição da atividade da bomba Na/K ATPase, houve também piora no desempenho em testes de	(LIMA et al., 2008)

				memória espacial (<i>Barnes maze</i>).	
Impacto cortical controlado (rato)	↑TBARS no cérebro	↓ cérebro	↓CAT ↓SOD ↓GPx cérebro	O estudo mostra a elevação dos níveis de lipoperoxidação em tempos diversos, bem como a redução dos níveis de GSH, e da atividade CAT, SOD, GPx, GR, GST e G6PD, bem como níveis de proteínas sinápticas no hemisfério ipsilateral ao trauma.	(ANSARI; ROBERTS; SCHEFF, 2008)
Impacto Cortical Controlado (rato)	↑ no cérebro	X	X	O jejum melhorou a função mitocondrial, reduziu a peroxidação lipídica e a carbonilação proteica, a carga de cálcio e demonstrou melhoras na memória espacial (<i>labirinto aquático de Morris</i>).	(DAVIS et al., 2008)
Queda de peso (rato)	↑ no cérebro	X	CAT e SOD não alterou cérebro	Os níveis de MDA e NO foram atenuados pelo tratamento com eritropoetina, propofol, e eritropoetina em associação com propofol. A atividade da XO foi atenuada pelo tratamento com eritropoetina.	(OZTÜRK et al., 2008)
Modelo de trauma difuso	↑MDA no cérebro	↓	X	Ocorreu elevação nos níveis de peroxidação lipídica, nitrito e nitrato,	(TAVAZZI et al.,

(rato)		cérebro		redução nos níveis de glutathione e de ascorbato. Estes níveis se normalizam no 5º dia após trauma moderado.	2007)
Impacto cortical controlado (rato)	↑Oxidação da cardiolipina	↓	X	A oxidação da cardiolipina precede o aparecimento de biomarcadores de apoptose (ativação de caspase-3), e perda de glutathione e ascorbato.	(BAYIR et al., 2007)
Modelo de TCE difuso (rato)	↑MDA no cérebro	X	X	O tratamento com manitol reduziu os níveis de MDA, GPx e CAT	(YILMAZ et al., 2007)
Percussão de fluido (rato)	↑4-HNE no cérebro	↓ cérebro	X	Tratamento com fenofibrato reduziu os níveis 3NT, 4HNE, e iNOS, aboliu a queda nos níveis de glutathione, reduziu a resposta inflamatória e melhorou escores neurológicos.	(CHEN et al., 2007)
Queda de peso (rato)	↑MDA no cérebro	↓ cérebro	X	O tratamento com resveratrol reduziu os níveis de MDA, XO, aumentou os níveis de glutathione e atenuou o volume de lesão.	(ATES et al., 2007)
Impacto cortical controlado (camundongo)	↑4-HNE no cérebro	X	X	As alterações de 4-HNE e 3-NT precedem a ativação da calpaína, que precede a neurodegeneração.	(DENG et al., 2007)

Modelo de trauma (rato)	↑MDA no cérebro	↓ cérebro	X	Tanto trauma quando pinealectomia reduzem os níveis de GSH, o tratamento com melatonina eleva os níveis de GSH e reduz MDA, NO, XO.	(ATES et al., 2006)
Impacto cortical controlado (rato)	↑4-HNE no cérebro	X	X	O dano oxidativo causado pelo TCE é dependente da idade sendo que animais idosos apresentam dano maior em relação aos jovens	(SHAO et al., 2006)
Queda de peso (rato)	↑TBARS no cérebro	X	SOD não alterou cérebro	Os níveis de MDA e NO foram atenuados pelo tratamento com eritropoetina, propofol, e eritropoetina+propofol.	(OZTURK et al., 2005)
Queda de peso (rato)	↑TBARS no cérebro	X	↑CAT 6h ↓CAT 24h cérebro	A administração de gadolínio e amilorida (bloqueadores de canais iônicos) reduziram a lipoperoxidação e evitaram a diminuição da atividade da CAT em 24 h.	(SANTOS et al., 2005)
Queda de peso (rato)	↑TBARS no cérebro	X	X	Trauma elevou os níveis de TBARS e a atividade da enzima xantina oxidase.	(SOLAROGLU et al., 2005)

Queda de peso (rato)	↑TBARS no cérebro	X	SOD e CAT não alterou cérebro	O tratamento com melatonina impediu a peroxidação lipídica.	(OZDEMIR et al., 2005)
Impacto cortical controlado (rato)	X	X	↑CAT ↑GPx ↓SOD cérebro	A hipotermia reduziu a atividade da CAT e GPx, aumentou a atividade SOD, suprimiu a elevação dos níveis do fator de crescimento de nervo (NGF). O tratamento com NGF após trauma não influenciou a atividade enzimática.	(DEKOSKY et al., 2004)
Impacto cortical controlado (rato)	X	X	↑CAT ↑GPx ↓SOD cérebro	Elevações dos níveis do NGF precedem a elevação da atividade de CAT e GPx e redução da atividade da SOD após trauma.	(DEKOSKY et al., 2004)
Impacto cortical controlado (rato)	↑MDA no cérebro	X	X	O pré-tratamento com cafeína antes do trauma eleva os níveis de MDA, mieloperoxidase, o volume de lesão, assim como piorou os escores neurológicos e a mortalidade.	(AL MOUTAERY et al., 2003)
Impacto cortical controlado (rato)	X	X	↑GPx cérebro	Não foram encontradas diferenças quanto à formação de edema entre ratos de 21 dias e adultos. Porém os cérebros dos animais de 21 dias não	(FAN et al., 2003)

				responderam com aumento de GPx como no adulto.	
Queda de peso (rato)	↑TBARS no cérebro	X	X	Ratos diabéticos apresentaram piores escores em escala de gravidade neurológica, edema mais intenso e maiores níveis de peroxidação lipídica, bem como menores níveis de vitamina C e E.	(ELANGO VAN; KOHEN; SHOHAMI, 2000)
Queda de peso (camundongo)	X	Não alterou cérebro	↑GPx ↑CAT SOD não alterou Cérebro	Camundongos deficientes de APOE apresentaram maiores atividades de SOD, CAT e GR. GPx não alterou. Não houve diferenças nos níveis de GSH e ascorbato.	(LOMNITSKI et al., 1999)
Impacto cortical controlado (rato)	↑MDA no cérebro	X	X	A perturbação da homeostase sináptica é um evento precoce no trauma e ocorre concomitante com redução dos níveis de ATP e aumento da peroxidação lipídica.	(SULLIVAN et al., 1998)

X: Parâmetro não avaliado no estudo

5.4 - Marcadores do estresse oxidativo no TCE - dados clínicos

Diversas pesquisas também objetivaram detectar alterações oxidativas em pacientes vítimas de TCE, conforme demonstrado no Quadro 5. Assim como nos modelos animais, diversas evidências apontam a ocorrência do estresse oxidativo no trauma. Bayir e colaboradores, por exemplo, demonstraram que em crianças que sofreram TCE grave, a evolução do quadro é marcada por comprometimento progressivo das defesas antioxidantes e aumento na peroxidação lipídica. Estes achados poderiam ser utilizados como marcadores da evolução clínica destes pacientes. Neste trabalho foi observada depleção dos níveis de ascorbato no líquido, seguido da formação de seu radical, além de uma diminuição nos níveis de GSH e da capacidade antioxidante (BAYIR et al., 2002). Marcadores da peroxidação lipídica derivados do ácido araquidônico, como F2-isoprostanos, encontraram-se em níveis elevados no líquido após o TCE. De fato, demonstrou-se correlação positiva entre F2-isoprostanos com níveis de enolase neurônio específica, um marcador de dano neuronal (CORCORAN et al., 2011; VARMA et al., 2003).

A 8-iso-prostaglandina F2 α (8-iso-PGF2 α) é derivada da oxidação tanto enzimática, pela ciclooxigenase, quanto não enzimática do ácido araquidônico (PRATICÒ et al., 1996). Este isoprostrano é considerado um excelente marcador de estresse oxidativo *in vivo*. Pesquisas recentes obtiveram sucesso em correlacionar a concentração plasmática desse marcador com a ECG. Isso se mostra num dado de extrema importância, pois seria um fator preditivo da mortalidade e

desfecho com sensibilidade semelhante a ECG (CLAUSEN et al., 2012; YU et al., 2013).

Corcoran e colaboradores sugeriram que F4-neuroprostrano no líquido também possa ser um marcador útil no monitoramento e manejo de pacientes inconscientes na UTI. A relevância desse marcador se daria devido a certa especificidade pelo SNC. Os neuroprostranos são derivados da oxidação de ácido docosaexanóico, um ácido graxo poliinsaturados que existe em concentrações elevadas no cérebro. Dessa forma, quando presente no líquido, indicaria um dano oxidativo apenas às células neurais (CORCORAN et al., 2011). Porém, a aplicabilidade clínica dessa técnica é limitada, e nem todos os pacientes podem ser analisados devido à necessidade de amostragem de líquido.

O estresse nitrosativo também foi demonstrado. Darwish e colaboradores demonstraram a presença de 3-NT no líquido de pacientes vítimas de TCE. Neste trabalho, não foi detectado 3-NT em amostras de pacientes controle, mas sim em 7 dos 10 pacientes apresentaram um aumento desse marcador no líquido. Os níveis elevados de 3-NT também estavam associados a um desfecho neurológico ruim medido pela escala de desfecho de *Glasgow*, porém, novamente, por tratar-se de um marcador do líquido tem sua aplicabilidade clínica limitada (DARWISH; AMIRIDZE; AARABI, 2007).

Foi demonstrado também que danos oxidativos no cérebro precedem um aumento do catabolismo de ATP no líquido, mesmo com a PIC estando normal. Isto sugere que o estresse oxidativo causa uma perturbação irreversível no metabolismo energético cerebral que é seguido por um aumento refratário da PIC (CRISTOFORI et al., 2005).

Rael e colaboradores evidenciaram um ambiente oxidativo no plasma dos pacientes vítimas de TCE (RAEL et al., 2009). Foi constatado um aumento no potencial óxido-redutor do plasma de pacientes que tiveram TCE grave, além de um aumento significativo da oxidação de albumina. Assim, os autores destacam a possibilidade de monitorar este potencial para avaliar a gravidade dos ferimentos e a eficácia do tratamento de pacientes com TCE.

É incontestável a participação do estresse oxidativo na fisiopatologia do TCE. No entanto, a utilização dos marcadores do estresse oxidativo para monitoramento do processo patológico apresenta dados divergentes. Apesar de que diversos trabalhos demonstram alterações oxidativas no TCE, a correlação dessas alterações com a gravidade do TCE medida pela ECG, ainda é controversa. Nayak e colaboradores, por exemplo, detectaram níveis mais elevados de peroxidação lipídica, diminuição nos níveis de GSH e aumento da atividade da SOD em eritrócitos de pacientes com TCE grave, em comparação com pacientes vítimas de TCE leve (NAYAK et al., 2006, 2007, 2008). Em outro trabalho do mesmo grupo, apesar de detectar um aumento na peroxidação lipídica de eritrócitos de pacientes com TCE, esse não se correlacionou com a ECG, indicando que esse marcador não é um bom preditor da severidade do trauma (NAYAK et al., 2008). Níveis plasmáticos de peroxidação lipídica e carbonilação de proteínas também não se mostraram como fatores preditivos associados à mortalidade hospitalar ou como fator preditivo do comprometimento cognitivo de pacientes com TCE (HOHL et al., 2012; THAIS et al., 2012).

Com isso, embora a literatura demonstre a inequívoca correlação dos marcadores de peroxidação lipídica com o trauma, tanto em modelos animais como em humanos, a correlação dos níveis de 4-HNE e MDA com o desfecho do TCE apresenta dados divergentes, necessitando de mais estudos para determinar se existe de fato alguma associação com o prognóstico e desfecho. Essa divergência pode estar relacionada com uma maior ocorrência de isquemia/reperfusão no trauma leve comparado ao trauma grave (PETRONILHO et al., 2010). Uma das principais fontes de ERO no TCE é justamente a reperfusão tecidual que ocorre após a isquemia secundária ao trauma. No trauma grave há uma lesão tecidual primária maior, causando mais morte celular. Já no trauma leve há mais células viáveis que podem se beneficiar da reperfusão, e secundariamente gerar ERO no local, aumentando a produção dos marcadores de peroxidação lipídica.

Entretanto, o marcador de peroxidação lipídica 8-iso-PGF2 α mostrou, em estudos clínicos e pré-clínicos, uma tendência a se correlacionar com o desfecho (CLAUSEN et al., 2012; JIANG et al., 2013, 2013; YU et al., 2013). Este marcador é proveniente da quebra do ácido araquidônico, enzimática e não enzimática (PRATICÒ et al., 1996), o que nos sugere que além de ser um parâmetro do estresse oxidativo ele também pode ser um marcador correlacionado com a inflamação. Dessa forma, este marcador pode ser uma ferramenta a mais em prever o prognóstico dos pacientes com TCE, por ser um marcador de lipoperoxidação que pode ser dosada facilmente em amostra de sangue periférico. A sua medida seria uma estratégia em potencial para o acompanhamento da evolução e desfecho do TCE.

Quadro 5. Marcadores de estresse oxidativo no TCE pesquisados em estudos clínicos

Marcador (local dosado)	Principais achados	Referência
8-iso-PGF2 α (plasma)	Os níveis de 8-iso-PGF2 α , um marcador de peroxidação lipídica <i>in vivo</i> , foi um bom fator preditivo (independente) de mortalidade e desfecho, com poder discriminatório semelhante a ECG. O estudo avaliou os pacientes um ano após o TCE.	(YU et al., 2013)
TBARS, carbonilação (plasma)	Os níveis plasmáticos de TBARS e carbonilação proteica aumentam significativamente nas primeiras 70 horas após TCE grave, mas não são fatores independentes associados com a mortalidade hospitalar.	(HOHL et al., 2012)
TBARS, Carbonilação (plasma)	Os níveis de TBARS e carbonilação não são biomarcadores úteis para predizer a morbidade cognitiva de paciente com TCE grave	(THAIS et al., 2012)
8-iso-PGF2 α (líquor)	Os resultados confirmam uma estreita relação entre estresse oxidativo e excitotoxicidade no TCE humano. Microdiálise para 8-iso-PGF2 α em combinação com glicerol (que é um marcador de degradação de membranas celulares) podem ser úteis biomarcadores de estresse oxidativo na UTI	(CLAUSEN et al., 2012)
Isofurano, F4- neuroprostano, F2-	Alterações significativas foram encontradas somente nos níveis de isofurano e F4-neuroprostano, sugerindo que eles possam ser utilizados para monitorar o manejo	(CORCORAN et al., 2011)

isoprostano (líquor)	dos pacientes inconscientes na UTI.	
F2-Isoprostano, tióis de proteína, GSH (líquor)	Marcadores de estresse oxidativo, defesas antioxidantes, PIC, PAM e PPC não mudaram significativamente para qualquer período de tempo em paciente submetido à hiperóxia normobárica.	(PUCCIO et al., 2009)
Potencial óxido-redutor, oxidação de proteínas (plasma)	Os autores demonstram a presença de um ambiente oxidativo no plasma de pacientes traumatizados, especificamente no TCE grave isolado. A oxidação de proteínas não alterou significativamente. Sugere que o monitoramento potencial de óxido-redução plasmático possa ser uma ferramenta para avaliar o grau de estresse oxidativo, a inflamação, a gravidade dos ferimentos e a potencial eficácia do tratamento em pacientes com TCE isolado.	(RAEL et al., 2009)
Reserva total antioxidante, tióis de proteína, GSH, 8-iso-PGF2 α (líquor)	Demonstra que a hipotermia atenua estresse oxidativo após TCE grave em bebês e crianças.	(BAYIR et al., 2009)
8-iso-PGF2 α (plasma e	Os níveis de melatonina endógena no líquido aumentam após TCE, enquanto os níveis séricos não. Há correlação negativa entre os níveis da melatonina e os	(SEIFMAN et al., 2008)

líquor)	níveis de 8-iso-PGF2 α . Não há correlação entre o ECG e os níveis de melatonina.	
TBARS, GSH, SOD, GR (sangue)	TBARS estão elevados em pacientes com TCE moderado a grave. Também houve diminuição dos níveis de GSH e aumento da atividade SOD. GR não sofreu alteração. A intensidade do estresse oxidativo variou com a gravidade do trauma.	(NAYAK et al., 2008)
TBARS, GSH (sangue)	Trauma elevou TBARS e reduziu GSH, mas estes níveis não mostraram correlação com ECG.	(NAYAK et al., 2008)
GPx, SOD, GR (sangue)	As atividades SOD e GPx aumentaram no sangue de pacientes com TCE grave, avaliados num período de 21 dias pós-trauma. As mudanças nas atividades de enzimas antioxidantes não estão correlacionadas com os escores ECG dos pacientes, exceto GR, que mostrou uma correlação negativa com ECG.	(NAYAK et al., 2007)
3-NT (líquor)	O desfecho ruim medido pela EDG está associado com aumento dos 3-NT no líquido.	(DARWISH; AMIRIDZE; AARABI, 2007)
HO-1 (líquor)	Heme oxigenase-1 medida no líquido aumenta após TCE de maneira relacionada com a gravidade do trauma e parece ser mais proeminente em crianças mais jovens, comparadas com crianças mais velhas.	(COUSAR et al., 2006)
MDA, tióis proteicos (plasma)	O sulfato de amantadina, um antagonista do receptor NMDA, quando administrado aleatoriamente, induziu a uma menor letalidade, porém com piora nos resultados da EDG. Estes dados estão correlacionados com redução nos níveis de MDA.	(SANIOVA et al., 2006)

TBARS (eritrócitos)	Peroxidação lipídica (TBARS) permaneceu significativamente elevado em pacientes TCE grave. Ceruloplasmina também permaneceu elevada. A diminuição de produtos de peroxidação lipídica e o aumento significativo nos níveis de ceruloplasmina no dia 21 correlacionam-se com a melhora na pontuação ECG.	(NAYAK et al., 2006)
4-HNE (sangue)	Conclui-se que ambos os grupos de pacientes (Huntington e TCE) apresentam anormalidades no metabolismo do triptofano (medidos no sangue), o que pode estar relacionado à elevado estado inflamatório e de estresse oxidativo.	(CHRISTOFIDES et al., 2006)
MDA (líquor)	Danos oxidativos do cérebro precedem o aumento no catabolismo do ATP no líquido, mesmo com PIC abaixo de 20 mmHg. Os dados sugerem que o estresse oxidativo causa perturbação irreversível no fornecimento de energia celular, seguido por um aumento da PIC de modo refratário. Liberação maciça de oxipurinas e nucleotídeos foram encontrados 36h antes de morte cerebral.	(CRISTOFORI et al., 2005)
F2- isoprostanos (líquor)	Há um aumento rápido e transitório em F2-isoprostanos, um marcador da peroxidação lipídica, no líquido após TCE grave em bebês e crianças. No primeiro dia após o trauma os níveis de F2-isoprostano estão correlacionados com os níveis de enolase neurônio específica, um marcador de dano neuronal. Estes dados indicam um papel do estresse oxidativo no dano neuronal secundário ao TCE em bebês e crianças	(VARMA et al., 2003)
F2- isoprostano, GSH (líquor)	TCE grave em bebês e crianças é marcado por comprometimento progressivo de defesas antioxidantes e peroxidação lipídica mediadas por radicais livres. Os dados sugerem que estes marcadores poderiam ser usados para avaliar o efeito das	(BAYIR et al., 2002)

	terapias antioxidantes em pacientes após TCE.	
MDA (líquor)	A peroxidação lipídica ocorre precocemente (elevação MDA). Isto justifica o fracasso dos ensaios clínicos, que usam drogas que eliminam radicais livres de oxigênio. Uma alternativa seria testar a eficácia de bloqueadores da cadeia de peroxidação lipídica em ensaios clínicos futuros.	(CRISTOFORI et al., 2001)

5.5-Estratégias antioxidantes no TCE - dados pré-clínicos

Tendo em vista a grande quantidade de evidências que apontam a participação das ERO na fisiopatologia do TCE, surgiu a hipótese de que a eliminação direta desses oxidantes poderia ter um efeito protetor nessa doença. Neste sentido, diversos antioxidantes têm sido estudados visando reverter ou prevenir os danos causados (Quadro 6). Dentre os antioxidantes empregados, podemos identificar dois tipos de estratégias protetoras: os antioxidantes com ação de *scavengers*, que podem neutralizar diretamente as ERO formadas, e os moduladores das defesas antioxidantes, que podem aumentar a expressão de enzimas e outros antioxidantes celulares.

5.5.1-Scavengers

Superóxido dismutase: Apesar da SOD intracelular possuir uma grande capacidade de eliminar superóxido, a atividade dessa enzima na porção extracelular é baixa. Tendo em vista a grande concentração de $O_2^{\cdot-}$ gerada no TCE, várias pesquisas tentaram utilizar a SOD como uma estratégia farmacológica. Yunoki e colaboradores demonstraram que o tratamento com SOD lecitinizada, uma manipulação que aumenta a afinidade desta enzima pelas membranas, aumentou a contagem de neurônios pós TCE em modelo experimental (YUNOKI et al., 1997, 2003). O tratamento com SOD, 10 min. após TCE, também teve efeitos benéficos sobre o fluxo sanguíneo cerebral em ratos (MUIR et al., 1995). Outro *scavenger* de superóxido, OPC-14117, ainda, demonstrou

atenuação do edema, déficits comportamentais e menor perda tecidual promovida pelo TCE (AOYAMA et al., 2002; KAWAMATA et al., 1997; MORI et al., 1998).

Nitronas: Os *scavengers* de radicais livres da classe das nitronas têm mostrado benefícios em modelos experimentais. As α -fenil-N-*terc*-butil nitrona (PBN) e sua forma sulfatada (S-PBN) mostraram-se capazes de atenuar alterações no fluxo sanguíneo cerebral regional e do metabolismo da glicose desencadeadas pelo trauma. Melhores escores neurológicos e menores níveis de ERO também foram encontrados pelos autores (MARKLUND et al., 2001, 2001, 2002). A NXY-059 demonstrou ser capaz de atenuar o dano ao tecido cerebral, e apresentou melhores desfechos cognitivos (CLAUSEN et al., 2008).

Tempol: O tempol (4-hidroxi-2,2,6,6-tetrametil-piperidina-1-oxil), é um conhecido eliminador de peroxinitrito, também exibindo propriedades neuroprotetoras (ZHANG et al., 1998). A administração de tempol foi capaz de atenuar o dano oxidativo e nitrosativo às mitocôndrias em modelo experimental de TCE (DENG-BRYANT et al., 2008). Também foi visto que a hipotermia pode ser uma medida neuroprotetora, quando aplicada logo após o dano (GONG et al., 2012; SUEHIRO et al., 2003). Tem-se sugerido que é necessária a utilização de estratégias para alargar a "janela terapêutica", o que permitiria o uso de *scavengers* de radicais livres no TCE (FUJITA et al., 2011).

Edaravone: Edaravone é um antioxidante já aprovado para o tratamento de infarto cerebral agudo no Japão. Esta droga já foi estudada

em modelos animais e em humanos, tendo efeitos neuroprotetores com relação a edema cerebral, danos oxidativos e danos endoteliais na isquemia cerebral. Recentemente o edaravone também foi testado em modelos animais de TCE. Edaravone atenuou o volume de dano por TCE quando administrado 3 horas após a lesão, além de diminuir a produção de $O_2^{\bullet-}$, sugerindo que o efeito protetor se correlaciona com o efeito antioxidante (MIYAMOTO et al., 2013, 2013). Segundo Dohi e colaboradores, esta droga ainda tem a capacidade de doar elétrons para radicais de peróxidos lipídicos podendo parar cascatas de lipoperoxidação, sendo mais potente que a vitamina E. As propriedades antioxidantes e neuroprotetoras do Edaravone foram confirmadas por outros autores em modelos de TCE, fazendo com que seja uma droga visada para futuros ensaios clínicos específicos para o TCE (DOHI et al., 2007; ITOH et al., 2009, 2010; YAMASHITA et al., 2011; ZHAO et al., 2010).

Vitamina E (α -tocoferol): Vitamina E é um antioxidante hidrofóbico endógeno que tem a importante função de interromper cascatas de lipoperoxidação, sendo imprescindível para a manutenção da integridade das membranas celulares. A vitamina E se mostrou eficiente em reduzir a peroxidação lipídica (INCI; OZCAN; KILINÇ, 1998), o edema cerebral (IKEDA et al., 2000; PETTY et al., 1996) e evidências histológicas de dano cerebral em modelos experimentais (YANG et al., 2013).

Melatonina: Melatonina é um hormônio endógeno que tem propriedades antioxidantes. Já foi relatado a sua atividade como

scavenger de $\cdot\text{OH}$, $\text{O}_2^{\cdot-}$, oxigênio *singlet* e peroxinitrito (ATES et al., 2006). A administração de melatonina, logo após do TCE, mostrou-se capaz de reduzir o edema cerebral, reduzir a morte neuronal e déficits de memória em modelos de TCE (BAYIR et al., 2008; KABADI; MAHER, 2010). Estas descobertas estão correlacionadas com melhoras nos marcadores de estresse oxidativo e níveis de antioxidantes de baixo peso molecular, como a vitamina C (BENI et al., 2004; MÉSENGE et al., 1998; OZDEMIR et al., 2005, 2005). Entretanto, Kelso e colaboradores demonstraram que o tratamento com melatonina associada ou não com minociclina, um inibidor da micrógliã, não trouxe benefícios e não foi neuroprotetora em modelo de TCE (KELSO et al., 2011).

Lazaróides: Lazaróides pertencem ao grupo dos 21-aminoesteróides sem atividade glicocorticóide. Essas moléculas possuem a propriedade de inibir a lipoperoxidação, tanto por agirem como *scavengers* de radicais, como por estabilizarem a membrana, limitando assim, a propagação da cascata de lipoperoxidação (HALL; VAISHNAV; MUSTAFA, 2010). Uma dessas drogas, tirilazade, já foi amplamente documentada na literatura, sendo protetora em diversos modelos animais. Durmaz e colaboradores demonstraram que lazaróides administrados profilaticamente foram capazes de reduzir o edema cerebral após modelo de TCE, provavelmente por reduzir a lipoperoxidação e estabilizar o funcionamento das bombas iônicas Na^+/K^+ ATPase e $\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ ATPase (DURMAZ et al., 2003). A administração de 16-desmetil-tirilazade ainda mostrou ser capaz de reduzir os níveis de anion superóxido no espaço extracelular,

contribuindo para seu efeito protetor (FABIAN; DEWITT; KENT, 1998).

5.5.2-Moduladores das defesas antioxidantes

N-acetilcisteína: Estratégias que visam aumentar os níveis de GSH também têm sido estudadas em modelos animais. Trabalhos com N-acetilcisteína (NAC), um precursor da GSH, demonstraram que essa droga foi capaz de diminuir o estresse oxidativo pós TCE quando essa droga foi aplicada até 1h após o trauma (XIONG; PETERSON; LEE, 1999; YI; HAZELL, 2005). Em contraste, NAC não teve efeito protetor quando administrada 2h após o trauma, indicando que o NAC age nos primeiros momentos da lesão. Neste trabalho, os autores verificam uma recuperação dos níveis de GSH desde 1h após a lesão, até o 14 dia. Assim, é possível que os efeitos protetores do NAC estejam relacionados com a sua capacidade de restaurar os níveis de GSH. Em outro trabalho, o tratamento com NAC foi capaz de diminuir os níveis de diversas citocinas inflamatórias e a ativação de NF- κ B quando administrado logo após o trauma, demonstrando um papel anti-inflamatório e ainda foi capaz de reduzir o índice apoptótico, a permeabilidade da BHE e o edema cerebral (CHEN et al., 2008). Tratamento de animais com NAC também proporcionou melhora no desempenho em testes de memória e cognição após TCE (ABDEL BAKI et al., 2010).

Polifenóis: Polifenóis são componentes encontrados comumente em plantas, e assim, largamente ingeridos na dieta. Os polifenóis mais

abundantes na dieta humana são os flavonóides. Diversos trabalhos demonstram uma gama de efeitos benéficos à saúde, como atividade antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena e efeitos neuroprotetores (SCHMITZ, 2013). Embora trabalhos *in vitro* demonstrem que os polifenóis tenham ação de *scavengers* de radicais, ainda não está claro se o efeito antioxidante *in vivo* se dá por uma ação direta ou indireta, aumentando as defesas antioxidantes (HALLIWELL, 2009). Diversos flavonóides são capazes de mediar a translocação do fator de transcrição Nrf2 para o núcleo, aumentando, assim, a síntese de GSH, GPx, heme oxigenase, entre outras enzimas protetoras, através da ativação do elemento de resposta antioxidante (ARE) (LEONARDO; DORE, 2011).

Diversos fatores transcricionais podem se ligar ao ARE, sendo que o Nrf2 promove a sua ativação em resposta ao estresse oxidativo ou a moléculas eletrofílicas (ITO et al., 1997). Nrf2 é fator de transcrição sensível a alterações redox que tem sido relatado como sendo um regulador pleiotrópico dos mecanismos de sobrevivência da célula (OWUOR; KONG, 2002). Estudos recentes demonstraram que o Nrf2 tem um papel indispensável na indução de enzimas antioxidantes (HONG et al., 2010). Sob condições basais, Nrf2 é sequestrado no citoplasma pela proteína regulatória citosólica *Keap1*. Em condições de estresse oxidativo, Nrf2 transloca-se para o núcleo em resposta à oxidação de *Keap1* onde ele liga-se sequencialmente ao ARE, ativando a transcrição de proteínas antioxidantes (JAIN; BLOOM; JAISWAL, 2005; OSBURN et al., 2006). A ativação de ARE leva a expressão de importantes enzimas envolvidas na defesa antioxidante, como a expressão de GSH e enzimas envolvidas com seu ciclo catalítico, SOD, facilita a produção de NADPH, aumenta a expressão de enzimas

envolvidas no catabolismo de heme (Heme oxigenase). Ainda pode aumentar a proteção contra o acúmulo de proteínas desenroladas pela expressão de *heat shock proteins* e subunidades do proteossoma (LEONARDO; DORE, 2011).

Flavonóides possuem ação neuroprotetora em modelos de TCE. Curcumina demonstrou efeito neuroprotetor contra os danos do TCE experimental diminuindo o estresse oxidativo, melhorando funções motoras e a memória espacial (SHARMA; YING; GOMEZ-PINILLA, 2010; SHARMA et al., 2009; WU; YING; GOMEZ-PINILLA, 2006; WU et al., 2011). A administração de resveratrol pós TCE pode diminuir a neuroinflamação (GATSON et al., 2013) e lesão tecidual, e esses efeitos são correlacionados com a diminuição de estresse oxidativo, diminuição da atividade da enzima pró-oxidante xantina oxidase e aumento dos níveis de glutatona, sugerindo que esse efeito protetor deve-se à um efeito antioxidante (ATES et al., 2007; SINGLETON et al., 2010; SÖNMEZ et al., 2007).

Tratamento com picnogenol, um flavonóide encontrado em vários alimentos de origem vegetal, mostrou-se capaz de reduzir marcadores da peroxidação lipídica, bem como promover o aumento dos níveis de antioxidantes e enzimas correlatas, quando administrado até 4 horas após o trauma (ANSARI; ROBERTS; SCHEFF, 2013; SCHEFF; ANSARI; ROBERTS, 2013).

Conforme apresentado no Quadro 6, diversos autores mostram que o Nrf2 desempenha um papel importante na proteção contra a lesão secundária em modelos de TCE. Isso se dá pela maior expressão de enzimas como heme oxigenase 1, GST, GPx (CHEN et al., 2011; SAYKALLY et al., 2012) e promoção de atividade anti-inflamatória

(JIN et al., 2009). Também é demonstrado que a ativação dessa via pela terc-butil-hidroquinona ou sulfurofano é capaz de diminuir o edema e a apoptose cerebral, bem como reduzir o prejuízo da memória espacial e de trabalho em modelos de TCE (DASH et al., 2009; JIN et al., 2011).

Os dados da literatura apontam que os flavonóides são grandes candidatos a agentes neuroprotetores no TCE. O que ainda está para ser esclarecido é o mecanismo pelo qual essa proteção ocorre. Shih e colaboradores demonstraram, em diferentes modelos de isquemia/reperfusão, que a neuroproteção por catequinas é dependente da ativação de Nrf2/ARE. Neste estudo, o tratamento com catequinas, tanto antes quanto após a lesão, foi capaz de diminuir o volume de infarto em ratos selvagens, enquanto em ratos *knockout* do Nrf2 esse efeito foi abolido (SHIH; LI; MURPHY, 2005).

Em um trabalho recente, Ehren e colaboradores também produziram mais evidências de que a proteção dos flavonóides é dependente de expressão genômica. Neste trabalho, os autores demonstram que o flavonóide fisetina é capaz de proteger células contra danos oxidativos através do aumento de GSH. O aumento da GSH foi dependente tanto da ativação de Nrf2 quanto do *activating transcription factor 4*. Interessantemente, o tratamento com NAC ou DTT não bloqueou a ativação de Nrf2 induzida por fisetina, indicando que essa ativação não é dependente de radicais. Essa ativação também não parece ser dependente de quinases, mas sim pela estabilização de Nrf2 contra degradação, aumentando sua meia vida. Esse trabalho demonstra que este flavonóide pode ter a capacidade de ativar a via Nrf2/ARE de diversas maneiras, e essa ativação pode ser essencial na proteção mediada por essas moléculas (EHREN; MAHER, 2013).

Já foi visto que o estresse oxidativo proveniente do TCE aumenta a expressão de Nrf2. Esse aumento, porém, não é suficiente para evitar o dano oxidativo (HONG et al., 2010). Da mesma forma, ratos *knockout* Nrf2^{-/-} são mais suscetíveis a danos oxidativos por TCE. Porém, a ativação dessa via por sulfurofano, em animais selvagens, mas não em animais *knockout*, foi capaz de diminuir os danos oxidativos e volume de lesão pela expressão de enzimas antioxidantes. Dessa forma, fica claro que a ativação de Nrf2/ARE desempenha um importante papel na proteção celular frente ao TCE.

Quadro 6. Estratégias antioxidantes no TCE avaliadas em estudos pré-clínicos

Estratégia (animal)	Principais achados	Referência
Edaravone (camundongo)	Mostrou-se capaz de reduzir o estresse oxidativo e a morte neuronal principalmente quando administrado (3 mg/Kg) 3 horas após TCE.	(MIYAMOTO et al., 2013)
Edaravone (camundongo)	Os animais exibiram fluxo sanguíneo cerebral regional maior no hemisfério contralateral . Sugere-se que edaravone reduz dano neuronal pela eliminação de ERO e pela manutenção da autorregulação da vasculatura cerebral, quando administrado (3 mg/Kg) logo após o TCE.	(MIYAMOTO et al., 2013)
Edaravone (rato)	Edaravone pós TCE protege contra disfunção da plasticidade sináptica no hipocampo, possivelmente pela eliminação de radicais derivados do NO, quando administrado (8 mg/Kg) 15 min. pós-TCE.	(YAMASHITA et al., 2011)
Edaravone (rato)	Edaravone tem efeito terapêutico no TCE grave, e o mecanismo molecular está relacionado à atenuação da apoptose neuronal. Edaravone pós TCE inibiu a degeneração neuronal e apoptose induzida por radicais livres ao redor da área lesada.	(ITOH et al., 2010; ZHAO et al., 2010)
Edaravone (rato)	Edaravone, (3 mg/Kg) pós-TCE, inibiu a produção de radicais livres e a morte neuronal após lesão cerebral. Protegeu células positivas para nestina, incluindo células-tronco neurais. Estas células-tronco tem o	(ITOH et al., 2009)

	potencial de se diferenciar em neurônios e glia ao redor da área danificada.	
Edaravone (rato)	Edaravone, (3 mg/Kg) pós-TCE minimiza danos do TCE (diminuindo a área lesionada) e agindo como scavenger de radicais alcoxil.	(DOHI et al., 2007)
Fenóis - CAPE (rato)	Ácido cafeico fenil éster (CAPE), (10 mg/Kg) 30 min. pós-TCE, protegeu a BHE e diminuiu o volume da contusão. Porém, CAPE não melhorou o desempenho em qualquer função vestibulo-motora, motora, ou aprendizagem e memória	(ZHAO et al., 2012)
Fenóis - CAPE (rato)	CAPE, (10 μ mol/Kg) 15 min. pós-TCE, pode ser benéfico na prevenção de danos oxidativos ao tecido cerebral induzidos pelo trauma, mostrando assim seu potencial para uso clínico.	(KERMAN et al., 2012)
Fenóis - CAPE (camundongo)	CAPE, (10 e 50 mg/Kg) 30 min. pós-TCE, possui efeito protetor no traumatismo cranioencefálico, especialmente na formação de cicatriz glial na fase tardia, supostamente associada com a sua capacidade antioxidante.	(ZHANG et al., 2007)
Flavonóide – Picnogenol (rato)	Picnogenol, (100 mg/Kg) 15 min., 3 e 6 horas pós-TCE, diminuiu significativamente os níveis de carbonilação proteica, peroxidação lipídica e nitração de proteínas. Citocinas pró-inflamatórias aumentam no pós TCE. Picnogenol reduziu esta elevação em comparação aos animais controle.	(SCHEFF; ANSARI; ROBERTS, 2013)

Flavonóide - Baicaleína (rato)	Baicaleína, (30 mg/Kg) logo após o TCE, melhorou os resultados funcionais (escala de severidade neurológica e <i>Beam walk test</i>), diminuiu o volume de lesão e reduziu a indução de citocinas pró-inflamatórias.	(CHEN et al., 2008)
Flavonóide - Curcumina (rato)	Dieta rica em curcumina, pós-TCE, reduziu déficits motores e no aprendizado, avaliados pelo labirinto aquático de Morris e teste <i>beam walk</i> .	(WU et al., 2011)
Flavonóide - Curcumina (rato)	Dieta rica em curcumina, pós-TCE, conteve os danos promovidos pelo TCE no que tange a peroxidação lipídica, a homeostase da membrana celular e a memória espacial (labirinto aquático de Morris).	(SHARMA; YING; GOMEZ-PINILLA, 2010)
Flavonóide – Curcumina (rato)	Dieta rica em curcumina pré-lesão neutralizou o comprometimento da memória espacial (labirinto aquático de Morris) causado pelo TCE.	(WU; YING; GOMEZ-PINILLA, 2006)
Flavonóide – Curcumina (rato)	Dieta rica em curcumina, pós-TCE, restaura a homeostasia de membrana e melhora os desempenhos em testes comportamentais (labirinto aquático de Morris).	(SHARMA et al., 2009)
Flavonóide – Flavopiridol (rato)	Flavopiridol, (100 ou 250 μ mol/L) 30 min. pós-TCE, diminui a perda tecidual de forma dose-dependente pós TCE. Além disso, a administração sistêmica tardia de flavopiridol reduziu o volume de lesão e o edema.	(CERNAK et al., 2005)

Flavonóide - Flavopiridol (rato)	Tratamento com flavopiridol diminuiu o volume da lesão e a morte neuronal. Este também reduziu a cicatriz glial e a ativação microglial, melhorando a recuperação motora (escore neurológico) e memória espacial (labirinto aquático de Morris).	(DI GIOVANNI et al., 2005)
Flavonóide – Picnogenol (rato)	Picnogenol, (1, 5 e 10 mg/Kg), um biflavonoide, reduziu a formação de TBARS quando administrados até 4 horas após o trauma.	(ANSARI; ROBERTS; SCHEFF, 2013)
Flavonóide - Quercetina (rato)	Quercetina, (25 µmol/Kg) 1 hora pós-TCE, impediu a diminuição dos níveis de glutathione e a diminuição da atividade mieloperoxidase.	(SCHÜLTKE et al., 2005)
Flavonóide - Resveratrol (rato)	Resveratrol, (100 mg/Kg) 5 min. pós-TCE, melhorou o desempenho na memória espacial (labirinto aquático de Morris), reduzindo a contusão, preservando os neurônios hipocampusais.	(SINGLETON et al., 2010)
Flavonóide - Resveratrol (camundongo)	Resveratrol, (100 mg/Kg) 5 min. pós-TCE, resulta em uma diminuição de neuroinflamação. Sugerindo que o resveratrol pode ser benéfico na redução da lesão cerebral secundária após o TCE leve.	(GATSON et al., 2013)
Flavonóide - Resveratrol (rato)	Resveratrol, (100 mg/Kg) logo após o TCE tem um papel neuroprotetor contra perda neuronal, comprometimento motor (teste de campo aberto) e memória (teste de reconhecimento de novo objeto).	(SÖNMEZ et al., 2007)
Flavonóide - Resveratrol (rato)	Resveratrol, (100 mg/Kg) logo após o TCE, reduziu e os níveis de MDA, XO, e aumentou os níveis de GSH. Também atenuou a lesão de tecidual. Os resultados indicam que o tratamento com resveratrol	(ATES et al., 2007)

	imediatamente após lesão cerebral traumática reduz o stress oxidativo e o volume de lesão.	
Flavonóide - Galato-3-epigallocatequina Catequina (rato)	Suplementação dietética com EGCG pré e pós TCE inibe a morte de células tronco. Aumentando o potencial destas células se diferenciarem em neurônios e glia ao redor da área de lesão.	(ITOH et al., 2012)
Flavonóide - Galato-3-epigallocatequina Catequina (rato)	Suplementação dietética com EGCG diminui a apoptose em células neuronais.	(ITOH et al., 2012)
Flavonóide - Galato-3-epigallocatequina Catequina (rato)	Suplementação dietética com EGCG pré e pós TCE reduziu degeneração neuronal e apoptose induzida por radicais livres ao redor da área lesada, resultando em melhores desempenhos no teste do labirinto aquático de Morris.	(ITOH et al., 2011)
Flavonóide - Wogonin (camundongo)	Wogonin, (40 mg/Kg) administrado pós TCE, melhorou os resultados funcionais (<i>beam walk</i> , <i>rotarod</i>) e histológicos 28 dias após o TCE, reduziu o edema cerebral e atenuou a resposta inflamatória mediada por TLR4/NF- κ B.	(CHEN et al., 2012)
GSH – NAC (rato)	Minociclina associada à NAC no tratamento do TCE melhora cognição e memória (teste do campo aberto).	(ABDEL BAKI et al., 2010)

GSH-NAC (rato)	Administração NAC, (150 mg/Kg) 15 min. pós-TCE, reduziu índice apoptótico no cérebro lesionado, diminuiu a permeabilidade BHE e o edema cerebral.	(CHEN et al., 2008)
Inibidor da peroxidação lipídica (rato)	Inibidor da peroxidação lipídica LY341122, (100 mg/Kg) 15 min. pós-TCE, promoveu melhora em parâmetros histológicos.	(WADA et al., 1999)
Lazaróide (rato)	A administração de tirilazade, (3 mg/Kg) 60 min. pós TCE, reduziu os níveis de anion superóxido, mas sem influência sobre o FSC.	(FABIAN; DEWITT; KENT, 1998)
Lazaróide (rato)	Lazaróide U-83836E, (10 mg/Kg) 30 min. antes do TCE reduziu o edema, possivelmente inibindo a peroxidação lipídica (MDA) e por estabilizar a Na^+/K^+ ATPase.	(DURMAZ et al., 2003)
Melatonina (rato)	Melatonina administrada como uma dose única de 5 mg/Kg impediu o aumento nos níveis TBARS em ambos os hemisférios cerebrais (não traumatizado e traumatizado). A melatonina protege contra danos oxidativos induzidos por TCE no cérebro imaturo, em modelo de TCE.	(OZDEMIR et al., 2005)
Melatonina (rato)	Uridina (16 e 32 mg/Kg) e melatonina, (200 mg/Kg) pós TCE reduzem a formação de edema cerebral.	(KABADI; MAHER, 2010)
Melatonina (coelho)	Melatonina (100 mg/Kg) e manitol (2 gr/Kg) têm efeitos semelhantes, reduzindo o edema cerebral, conforme demonstrado na ressonância magnética 3 e 36 horas após o traumatismo craniano.	(BAYIR et al., 2008)

Melatonina (rato)	Melatonina reduz a morte neuronal induzida por trauma no hipocampo e melhora os déficits de memória espacial. Igualmente eficaz em doses de 5-20 mg/Kg.	(OZDEMIR et al., 2005)
Melatonina (rato)	Melatonina (1, 5, 10 mg/Kg) pós TCE, induz neuroproteção, presumivelmente através da potencialização dos antioxidantes do cérebro e atenuação da ativação do NF-κB.	(BENI et al., 2004)
Melatonina (rato)	Melatonina (5 mg/Kg) e minociclina (40 mg/Kg) 5 min. pós TCE, sozinhas ou combinadas, não mostraram melhora no teste de memória do labirinto aquático de Morris e diminuiu a perda de tecido cortical.	(KELSO et al., 2011)
Melatonina (camundongo)	Melatonina (100 mg/Kg) 5 min. pós-TCE exerce um efeito benéfico, melhorando o desempenho no <i>grip test</i> .	(MÉSENGE et al., 1998)
Nitrona (rato)	Nitróxidos foram capazes de proteger a BHE em modelo de TCE	(ZHANG et al., 1998)
Nitrona (rato)	S-PBN (47 mg/Kg) e PBN (30 mg/Kg) 30 min. antes do TCE, atenuam as alterações induzidas pelo trauma no fluxo sanguíneo cerebral regional e metabolismo da glicose.	(MARKLUND et al., 2002)
Nitrona (rato)	S-PBN (47 mg/Kg) pré-TCE, , reduziu a produção de ERO na mesma medida que PBN foi capaz de atravessar a BHE	(MARKLUND et al., 2001)
Nitrona	Os <i>scavengers</i> nitronas (S-PBN 47 mg/Kg e PBN 30 mg/Kg), 30 min.	(MARKLUND et al., 2001)

(rato)	pós-TCE são neuroprotetores, melhorando escores neurológicos e resultados em testes do labirinto aquático de Morris.	
Nitrona (rato)	O tratamento com NXY-059 (250 mg/Kg) pós-TCE, um <i>scavenger</i> de radicais livres, atenuou a perda de tecido cerebral lesionado e os resultados no labirinto aquático de Morris.	(CLAUSEN et al., 2008)
Nitrona (rato)	Terapia com a nitrona, STAZN (30 mg/Kg) 5 min. pós TCE, um potente antioxidante, melhorou a função neurológica medida por escores neurológicos e diminuiu o volume de lesão tecidual.	(BELAYEV et al., 2002)
Nrf2 (rato)	Aumento na expressão de Nrf2, HO-1, NQO1 e GST- α 1, resultando na redução do edema, da morte neuronal, e dos déficits motores	(CHEN et al., 2011)
Nrf2 (camundongo)	Após lesão cerebral traumática moderada, pode haver uma resposta protetora parcial através de vias reguladoras de neuroproteção como Nrf2.	(SAYKALLY et al., 2012)
Nrf2 (camundongo)	Ativação de Nrf2 por sulfurofano protegeu as células contra o estresse oxidativo induzido pelo TCE pelo aumento da expressão de enzimas antioxidantes (heme oxigenase 1 e NADPH quinina óxido-redutase) e diminuição dos danos oxidativos (carbonilação proteica e 4-HNE)	(HONG et al., 2010)
Nrf2 (camundongo)	Nrf2 desempenha um papel importante na proteção de lesão cerebral secundária induzida pelo TCE, possivelmente regulando citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-1 β e IL-6) e induzindo defesas antioxidantes	(JIN et al., 2008, 2009, 2011)

	(NADPH quinina óxido-redutase e GST). Dieta com tBHQ também diminuí o edema cerebral e a apoptose cortical.	
Flovonóide - sulforafano (rato)	Sulforafano (5 mg/Kg) 6 horas pós TCE, melhora o desempenho na tarefa de labirinto de água Morris e reduz a disfunção de memória de trabalho.	(DASH et al., 2009)
Salidrósidos (camundongo)	Salidrósidos melhoraram os resultados comportamentais, histológicos, diminuem o edema cerebral e a apoptose após TCE. O efeitos foram devido, pelo menos em parte, pela ativação da via de sinalização de PI3K/Akt.	(CHEN et al., 2012)
Saponina Ginseng (rato)	Ginseng (100 e 200 mg/Kg) logo após TCE, diminuí a perda neuronal induzida pelo TCE no hipocampo, diminuí o volume da contusão cortical e melhora desempenho no <i>rotarod</i> , <i>beam balance</i> e reflexos posturais.	(JI et al., 2005)
Saponinas Ginseng (rato)	Saponinas do Giseng, (10, 20, 40, 60 e 80 mg/Kg) 3 a 6 horas pós TCE, melhoraram a função neurológica e aspectos histológicos.	(HU et al., 2012)
Scavenger - Tempol (camundongo)	Os resultados demonstram relação entre danos oxidativos mediados pelo peroxinitrito às mitocôndrias cerebrais, e danos proteolíticos mediados pela calpaína e a neurodegeneração. O efeito neuroprotetor do tempol, (300 mg/Kg) 15 min. pós TCE foi modesto.	(DENG-BRYANT et al., 2008)
Scavenger - Tempol (rato)	A hipotermia estende a janela terapêutica para utilização do tempol.	(FUJITA et al., 2011)

SOD (rato)	PC-SOD (3000 UI/Kg) impediu a perda neuronal 3 dias após o TCE e aumentou o número de neurônios 7 dias depois TCE	(YUNOKI et al., 2003)
SOD (rato)	Hipotermia tardia preserva função vascular após TCE, ao mesmo tempo que expande a janela terapêutica onde agentes como SOD-miméticos poderão fornecer proteção.	(BARANOVA et al., 2008)
SOD (rato)	PC-SOD reduziu o edema cerebral através de um efeito protetor contra superóxido.	(YUNOKI et al., 1997)
SOD (rato)	PEG-SOD (10000 UI/Kg) 30 min. pós-TCE, preveniu a disfunção no teste <i>beam walk</i> .	(HAMM et al., 1996)
SOD (rato)	Efeito benéfico da SOD, (24000 UI/Kg) 15 min. pós-TCE, sobre fluxo sanguíneo cortical pós TCE	(MUIR et al., 1995)
Superóxido <i>Scavenger</i> (rato)	Superóxido está envolvido na formação de edema induzido por contusão, formação de necrose e déficits comportamentais, e o antioxidante OPC-14117 (300 mg/Kg) pós-TCE, um SOD-mimético, tem um potencial terapêutico para prevenir estes efeitos.	(KAWAMATA et al., 1997)
Superóxido <i>Scavenger</i> (rato)	Os radicais livres estão envolvidos na elevação de osmolaridade, edema, déficits comportamentais e alterações histológicas induzidas pelo trauma, tais achados são atenuados pelo eliminador de superóxido OPC-14117, (300 mg/Kg) pós-TCE.	(AOYAMA et al., 2002)

Superóxido <i>Scavenger</i> (rato)	Edema, dano tecidual e déficits cognitivos são atenuados por OPC-14117 (300 mg/Kg) pós TCE.	(MORI et al., 1998)
Vitamina E (rato)	α -tocoferol (600 mg/Kg) pós TCE, reduz evidência microscópica de dano cerebral. Promoveu melhoras nos escores de gravidade neurológica.	(YANG et al., 2013)
Vitamina E	Tratamento com derivado de vitamina E, TMG, (40 mg/Kg) pós TCE diminui o edema cerebral.	(IKEDA et al., 2000)
Vitamina E (cobaia)	A peroxidação lipídica foi aumentada pela gravidade do trauma. Alfa-tocoferol, (100 mg/Kg) pós TCE, diminuí o aumento nos níveis de peróxido lipídico.	(INCI; OZCAN; KILINÇ, 1998)
Vitamina E (rato)	Tratamento com análogo do tocoferol, MDL (1-10 μ g/Kg) pós-TCE, reduz edema.	(PETTY et al., 1996)
Vitamina E e curcumina (rato)	Nenhuma conclusão sobre neuroproteção em relação à α -tocoferol ou curcumina pode ser feita neste estudo.	(DI GIORGIO et al., 2008)

5.6 -Estratégias antioxidantes no TCE - dados clínicos

A relação entre o estresse oxidativo e o TCE tem gerado considerável interesse no desenvolvimento de terapias antioxidantes para neuroproteção. Apesar dos resultados promissores no tratamento do TCE em modelos animais, as evidências que suportam o uso de antioxidantes no tratamento de pacientes são limitadas (RIGG; ELOVIC; GREENWALD, 2005).

Ainda há poucos dados de ensaios clínicos com estratégias antioxidantes para tratamento do TCE (Quadro 7). Porém, algumas pesquisas já foram realizadas nesse sentido. Em ensaio clínico de fase II, a administração única de PEG-SOD (SOD conjugada com polietileno glicol), não apresentou efeitos adversos, diminuiu o número de mortes e o desfecho estado vegetativo persistente em pacientes vítimas de TCE (MUIZELAAR et al., 1993), porém estes dados não se sustentaram num ensaio clínico fase III (YOUNG et al., 1996). Existem várias explicações plausíveis para a ineficácia da ação da PEG-SOD na clínica, em contraste com os modelos animais. O grande tamanho da proteína, por exemplo, pode restringir sua ação na microvasculatura. A curta janela terapêutica para neutralizar o pico de produção de $O_2^{\bullet -}$ durante o TCE também pode ser um fator importante para a ineficácia dessa droga. Dessa forma, a utilização de fármacos que visam combater essa formação inicial de ERO, como as nitronas, SOD, tempol, entre outras, acaba tendo seu uso limitado na na prática clínica.

Alguns autores sugerem que uma estratégia mais viável seria inibir a cascata de lipoperoxidação decorrente do pico de produção das ERO nos primeiros momentos do trauma (CRISTOFORI et al., 2001;

HALL; VAISHNAV; MUSTAFA, 2010). Em estudo multicêntrico, não foram encontradas diferenças de desfecho nos pacientes tratados com o lazaróide tirilazade quando comparados aos controles, medidos pela escala de desfecho de *Glasgow* (MARSHALL et al., 1998). A falha do tirilazade em demonstrar relação com o desfecho clínico foi atribuída a sua inabilidade em transpor a BHE (FARIN; MARSHALL, 2004; FARIN et al., 2003).

Embora a utilização de *scavengers* de radicais livres tenha demonstrado efeitos neuroprotetores em modelos animais, os resultados da escassa literatura clínica não demonstraram êxito com a utilização desta estratégia. A justificativa para tal fracasso seria baseada na ideia que o tempo efetivo para o tratamento seria muito curto devido a sua produção nos primeiros momentos do TCE e sua curta meia vida depende da colocalização com o fármaco, o que muitas vezes é limitado pela baixa permeabilidade na BHE. Esta talvez seja uma explicação simplista e paradoxal, uma vez que espécies reativas de oxigênio continuam a ser produzidas após o dano inicial em cascatas de lesão secundária. Desta forma, dirigir a atenção para conter o a cascata de peroxidação lipídica parece ser uma estratégia mais interessante, já que esse evento se mantém por muitos dias após o trauma (BAINS; HALL, 2012). Neste sentido, inibidores da peroxidação lipídica como tirilazade foram investigados, porém, novamente os ensaios clínicos foram frustrantes. O fracasso com a utilização do tirilazade foi atribuído a sua inabilidade em penetrar a BHE. Assim, a pesquisa de outros inibidores da peroxidação lipídica que tenham melhor penetração na BHE pode ser uma perspectiva para futuras terapias ou para novos estudos pré-clínicos.

Hoffer e colaboradores chamam a atenção para a N-acetilcisteína, que já é um fármaco aprovado para uso em seres humanos pelo *Foods and Drugs Administration* (FDA). Esta droga já é indicada para uso como mucolítico em várias afecções pulmonares. Em ensaio clínico duplo-cego do tipo placebo x controle, pacientes vítimas de TCE leve apresentaram melhoras em diversos sintomas como tontura, perda de memória e distúrbios de sono. Isto, quando tratados com N-acetilcisteína 7 dias após o trauma. Desta forma, essa droga pode ser promissora para futuros ensaios clínicos (HOFFER et al., 2013).

Como discutido anteriormente, a ativação de Nrf2 aumenta a expressão de diversas enzimas antioxidantes, além de diminuir a inflamação, protegendo células contra danos oxidativos em diversas situações patológicas. Desta forma, ativadores desta via são grandes candidatos a ensaios clínicos, já que podem agir atenuando os danos oxidativos em diversas fases do TCE. Porém, ainda não foi testado nenhum ativador de Nrf2 em ensaios clínicos. Entre os ativadores de Nrf2, o uso de flavonóides pode ser uma estratégia interessante por serem substâncias bem toleradas, que são ingeridas comumente na dieta.

O extrato de planta *Pinus radiata* (enzogenol) já foi testado em um ensaio clínico de fase II, e melhorou o desfecho cognitivo em pacientes vítimas de TCE leve (THEADOM et al., 2013). Este estudo forneceu evidências de que enzogenol é bem tolerado e pode reduzir falhas cognitivas autopercebidas em pacientes em 3-12 meses após TCE leve. Neste trabalho não foi analisado o mecanismo pelo qual esse extrato estaria agindo, porém, é possível que esse efeito esteja relacionado com as altas concentrações de flavonóides encontradas. Sabe-se que vários dos flavonóides que compõe esse extrato, como, por

exemplo, a quercetina e as protoantrocianidinas, tem a capacidade de ativar Nrf2 (PEREZ-VIZCAINO; DUARTE; SANTOS-BUELGA, 2012). Assim, mais estudos com esse extrato, ou com outros flavonóides, pode ser um caminho promissor em futuros testes clínicos.

Quadro 7. Estratégias antioxidantes no TCE avaliadas em estudos clínicos

Principais achados	Referência
NAC, uma contramedida farmacêutica segura, tem efeitos benéficos sobre a gravidade e a resolução das sequelas de explosão induzidas no TCE leve. Esta é a primeira demonstração de uma contramedida eficaz de curto prazo. Estudo realizados em 81 pacientes e avaliados por 7 dias pós-TCE.	(HOFFER et al., 2013)
Relato de caso em que o oxido nítrico inalado foi neuroprotetor	(PAPADIMOS; MEDHKOUR; YERMAL, 2009)
A hipotermia aumentou a atividade SOD, reduziu a PIC e melhorou o desfecho neurológico. Estudo avaliou 80 pacientes por 72 horas pós-TCE.	(QIU et al., 2007)
A hipotermia mostrou-se efetiva e segura e aumentou os níveis da SOD. Foram avaliados 66 pacientes num período de 2 anos.	(LIU et al., 2006)
Relato de caso em que não encontrou nenhum efeito adverso em criança com o uso do NO por via inalatória pós TCE.	(VAVILALA et al., 2001)
Ensaio Clínico fase II: PEG-SOD: Nenhuma complicação. Diminuiu o desfecho, morte e	(MUIZELAAR et al., 1993)

estado vegetativo persistente. Estudo avaliou 104 pacientes por 6 meses.	
Ensaio Clínico fase III:PEG-SOD: Nenhuma diferença de desfecho entre placebo e controle. Estudo avaliou 463 pacientes por 3 meses.	(YOUNG et al., 1996)
Tirilazade: ensaio clínico de fase III. Nenhuma diferença de desfecho medido pela GOS. Estudo avaliou 1120 pacientes por 6 meses.	(MARSHALL et al., 1998)
Enzogenol é seguro e bem tolerado em pessoas após TCE leve e pode melhorar o funcionamento cognitivo nesta população de pacientes. Este estudo fornece evidências classe IIB que Enzogenol é bem tolerado e pode reduzir falhas cognitivas autopercebidas em 60 pacientes 3-12 meses após TCE leve.	(THEADOM et al., 2013)
Edaravone é capaz de reduzir os níveis de radicais alcoxil em amostras de sangue jugular em 17 pacientes vítimas de TCE	(DOHI et al., 2006)

6- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos dois últimos séculos, houve uma importante redução das taxas morbidade e mortalidade do TCE. Entretanto, partir dos anos 90, tem se observado que as taxas de morbidade e mortalidade permanecem as mesmas até os dias de hoje. Para reverter este quadro parece ser um caminho fundamental o conhecimento das cascatas de dano secundário que sucedem o dano primário do TCE (impacto). Neste sentido, há uma forte correlação entre a neuroinflamação, os distúrbios das membranas celulares, o distúrbio do metabolismo energético e a excitotoxicidade. A interação destes fatores com o estresse oxidativo contribui para a formação do edema, levando a piora do FSC, o que resulta em dano isquêmico e morte celular. O desfecho, morte, estado vegetativo persistente, déficits motores e cognitivos, é o resultado da interação entre estes vários fatores.

Os trabalhos analisados mostram a incontestável participação do estresse oxidativo nos processos de dano secundário tanto em modelos experimental como em pesquisas com seres humanos. Por isto, a busca de marcadores relacionados ao estresse oxidativo, que se relacione com o desfecho, parece uma estratégia interessante. Devido à alta concentração de ácidos graxos poliinsaturados no cérebro, os quais podem ser alterados oxidativamente após o trauma e liberados no sangue, os marcadores de peroxidação lipídica são os mais investigados.

Conclusões:

- **O estresse oxidativo está relacionado com o TCE?**

O estresse oxidativo está indubitavelmente correlacionado com o TCE. Todas as evidências clínicas e pré-clínicas apontam um ambiente oxidativo tanto em volta da área lesada no SNC, como na circulação periférica e outros órgãos, o que demonstra o acometimento sistêmico. Diversas alterações que sucedem o trauma podem gerar ERO que levam ao comprometimento do metabolismo energético, distúrbio do Ca^{2+} e integridade das membranas celulares. Assim, o estresse oxidativo contribui para os processos de lesões secundárias, tais como a formação do edema.

- **Marcadores de peroxidação lipídica são efetivos na avaliação e prognose no TCE?**

Apesar dos marcadores de peroxidação lipídica sempre estarem elevados tanto em ensaios clínicos, como pré-clínicos, os níveis de MDA ou 4-HNE não se correlacionam diretamente com o desfecho neurológico pós-trauma. O marcador 8-iso-PGF2 α , porém, apresenta uma forte correlação com o desfecho, sendo um possível candidato a se tornar uma importante ferramenta preditiva na prática clínica.

- **Quais estratégias antioxidantes estão sendo investigadas no TCE e qual é sua eficácia?**

Os *scavengers* de radicais livres visam a interceptação destes imediatamente após a sua formação, geralmente nos primeiros

momentos pós-trauma. Até o momento, os *scavengers* de radicais livres não apresentaram eficácia nos ensaios clínicos, apesar de eficazes em modelos animais. A curta janela terapêutica torna o uso dessas substâncias impraticável, tendo em vista que precisariam ser aplicados imediatamente após o trauma. Uma estratégia mais interessante seria a inibição da cadeia de lipoperoxidação, mas uma droga desta categoria também não obteve sucesso em ensaio clínico de fase III. Ativadores da via Nrf2/ARE parecem ser promissores para o tratamento, mas ainda não existem estudos clínicos que demonstrem sua eficácia.

• Quais as perspectivas para o uso de marcadores relacionados ao estresse oxidativo e de antioxidantes na prognose e tratamento do TCE?

A consolidação da 8-iso-PGF2 α como uma ferramenta preditiva poderá aumentar o grau de precisão do prognóstico do TCE, sendo mais um critério a ser usado na calculadora de prognóstico (IMPACT).

Dentre as perspectivas que se tem para o uso de antioxidantes, destaca-se a pesquisa de inibidores de peroxidação lipídica com maior penetração no SNC, assim como de ativadores de Nrf2 que possam modular as cascatas de lesão secundária, podendo trazer um melhor desfecho clínico para o paciente vítima de TCE. Essas perspectivas estão esquematizadas na Figura 8.

Após a lesão primária diversas cascatas de lesão secundária são ativadas (neuroinflamação, excitotoxicidade, distúrbios do cálcio, disfunção mitocondrial...). O dano oxidativo a macromoléculas está relacionado com o aumento da permeabilidade da BHE e o aumento do edema cerebral, que se manifesta com a elevação da pressão intracraniana e resulta em diminuição do FSC. O FSC leva a isquemia tecidual que culmina com a morte celular tendo como resultante o desfecho clínico. Marcadores da peroxidação lipídica como 8-iso-PGF2 α são candidatos para futuros estudos como marcadores de prognóstico e desfecho. A descoberta de inibidores da peroxidação lipídica que possuam melhor penetração através da BHE é também uma perspectiva para ensaios futuros. Da mesma forma, o papel da utilização de ativadores de Nrf2/ARE na proteção contra o dano oxidativo e sua relação com prognóstico e desfecho é uma perspectiva futura desafiadora no que tange a neuroproteção no TCE.

REFERÊNCIAS

ABDEL BAKI, S. G. et al. Minocycline synergizes with N-acetylcysteine and improves cognition and memory following traumatic brain injury in rats. **PloS One**, v. 5, n. 8, p. e12490, 2010.

ABRAMOV, A. Y.; SCORZIELLO, A.; DUCHEN, M. R. Three Distinct Mechanisms Generate Oxygen Free Radicals in Neurons and Contribute to Cell Death During Anoxia and Reoxygenation. **The Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 5, p. 1129–1138, 31 jan. 2007.

ADIBHATLA, R. M.; HATCHER, J. F. Phospholipase A(2), reactive oxygen species, and lipid peroxidation in CNS pathologies. **BMB Reports**, v. 41, n. 8, p. 560–567, 31 ago. 2008.

AHMED, F. A. et al. Long-term consequences of single and multiple mild blast exposure on select physiological parameters and blood-based biomarkers. **Electrophoresis**, v. 34, n. 15, p. 2229–2233, ago. 2013.

AL MOUTAERY, K. et al. Caffeine impairs short-term neurological outcome after concussive head injury in rats. **Neurosurgery**, v. 53, n. 3, p. 704–711; discussion 711–712, set. 2003.

ANSARI, M. A.; ROBERTS, K. N.; SCHEFF, S. W. A time course of contusion-induced oxidative stress and synaptic proteins in cortex in a rat model of TBI. **Journal of Neurotrauma**, v. 25, n. 5, p. 513–526, maio 2008.

ANSARI, M. A.; ROBERTS, K. N.; SCHEFF, S. W. Dose- and Time-Dependent Neuroprotective Effects of Pycnogenol(®) following Traumatic Brain Injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 30, n. 17, p. 1542–1549, 1 set. 2013.

AOYAMA, N. et al. Effects of antioxidant, OPC-14117, on secondary cellular damage and behavioral deficits following cortical contusion in the rat. **Brain Research**, v. 934, n. 2, p. 117–124, 3 maio 2002.

ASTRUP, J.; SIESJÖ, B. K.; SYMON, L. Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra. **Stroke: a Journal of Cerebral Circulation**, v. 12, n. 6, p. 723–725, dez. 1981.

ATES, O. et al. Effect of pinealectomy and melatonin replacement on morphological and biochemical recovery after traumatic brain injury. **International Journal of Developmental Neuroscience: the Official Journal of the International Society for Developmental Neuroscience**, v. 24, n. 6, p. 357–363, out. 2006.

ATES, O. et al. Neuroprotection by resveratrol against traumatic brain injury in rats. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 294, n. 1-2, p. 137–144, jan. 2007.

AWASTHI, D. et al. Oxidative stress following traumatic brain injury in rats. **Surgical Neurology**, v. 47, n. 6, p. 575–581; discussion 581–582, jun. 1997.

BAILEY, I. et al. A trial of the effect of nimodipine on outcome after head injury. **Acta Neurochirurgica**, v. 110, n. 3-4, p. 97–105, 1991.

BAINS, M.; HALL, E. D. Antioxidant therapies in traumatic brain and spinal cord injury. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1822, n. 5, p. 675–684, maio 2012.

BARANOVA, A. I. et al. Cerebral vascular responsiveness after experimental traumatic brain injury: the beneficial effects of delayed hypothermia combined with superoxide dismutase administration. **Journal of Neurosurgery**, v. 109, n. 3, p. 502–509, set. 2008.

BAYIR, A. et al. The effects of mannitol and melatonin on MRI findings in an animal model of traumatic brain edema. **Acta Neurologica Belgica**, v. 108, n. 4, p. 149–154, dez. 2008.

BAYIR, H. et al. Assessment of Antioxidant Reserves and Oxidative Stress in Cerebrospinal Fluid after Severe Traumatic Brain Injury in Infants and Children. **Pediatric Research**, v. 51, n. 5, p. 571–578, maio 2002.

BAYIR, H. et al. Neuronal NOS-mediated nitration and inactivation of manganese superoxide dismutase in brain after experimental and human brain injury. **Journal of Neurochemistry**, v. 101, n. 1, p. 168–181, abr. 2007.

BAYIR, H. et al. Selective early cardiolipin peroxidation after traumatic brain injury: an oxidative lipidomics analysis. **Annals of Neurology**, v. 62, n. 2, p. 154–169, ago. 2007.

BAYIR, H. et al. Therapeutic Hypothermia Preserves Antioxidant Defenses after Severe Traumatic Brain Injury in Infants and Children. **Critical Care Medicine**, v. 37, n. 2, p. 689–695, fev. 2009.

BAYIR, H.; KOCHANNEK, P. M.; CLARK, R. S. B. Traumatic brain injury in infants and children: mechanisms of secondary damage and treatment in the intensive care unit. **Critical Care Clinics**, v. 19, n. 3, p. 529–549, jul. 2003.

BELAYEV, L. et al. Stilbazulenyl nitron, a novel azulenyl nitron antioxidant: improved neurological deficit and reduced contusion size after traumatic brain injury in rats. **Journal of Neurosurgery**, v. 96, n. 6, p. 1077–1083, jun. 2002.

BENI, S. M. et al. Melatonin-induced neuroprotection after closed head injury is associated with increased brain antioxidants and attenuated late-phase activation of NF-kappaB and AP-1. **FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 18, n. 1, p. 149–151, jan. 2004.

BERGENDI, L. et al. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. **Life Sciences**, v. 65, n. 18-19, p. 1865–1874, 1999.

BIAGAS, K. V. et al. Assessment of posttraumatic polymorphonuclear leukocyte accumulation in rat brain using tissue myeloperoxidase assay and vinblastine treatment. **Journal of Neurotrauma**, v. 9, n. 4, p. 363–371, 1992.

BISHOP, G. M.; DRINGEN, R.; ROBINSON, S. R. Zinc stimulates the production of toxic reactive oxygen species (ROS) and inhibits

glutathione reductase in astrocytes. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 42, n. 8, p. 1222–1230, 15 abr. 2007.

BLASIOLE, B. et al. Effect of hyperoxia on resuscitation of experimental combined traumatic brain injury and hemorrhagic shock in mice. **Anesthesiology**, v. 118, n. 3, p. 649–663, mar. 2013.

BLOCH, O.; MANLEY, G. T. The role of aquaporin-4 in cerebral water transport and edema. **Neurosurgical Focus**, v. 22, n. 5, p. E3, 2007.

BLYTH, B. J. et al. Validation of serum markers for blood-brain barrier disruption in traumatic brain injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 26, n. 9, p. 1497–1507, set. 2009.

BOULOS, S. et al. Peroxiredoxin 2 overexpression protects cortical neuronal cultures from ischemic and oxidative injury but not glutamate excitotoxicity, whereas Cu/Zn superoxide dismutase 1 overexpression protects only against oxidative injury. **Journal of Neuroscience Research**, v. 85, n. 14, p. 3089–3097, 1 nov. 2007.

BOVERIS, A. Mitochondrial production of superoxide radical and hydrogen peroxide. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 78, p. 67–82, 1977.

BRAAKMAN, R. (ED.). A multicenter trial of the efficacy of nimodipine on outcome after severe head injury. The European Study Group on Nimodipine in Severe Head Injury. **Journal of Neurosurgery**, v. 80, n. 5, p. 797–804, maio 1994.

BRANSTON, N. M. et al. Relationship between the cortical evoked potential and local cortical blood flow following acute middle cerebral artery occlusion in the baboon. **Experimental Neurology**, v. 45, n. 2, p. 195–208, nov. 1974.

BRUCE, A. J. et al. Altered neuronal and microglial responses to excitotoxic and ischemic brain injury in mice lacking TNF receptors. **Nature Medicine**, v. 2, n. 7, p. 788–794, jul. 1996.

BRUNS, J., Jr; HAUSER, W. A. The epidemiology of traumatic brain injury: a review. **Epilepsia**, v. 44 Suppl 10, p. 2–10, 2003.

CARR, A. C.; MCCALL, M. R.; FREI, B. Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species: reaction pathways and antioxidant protection. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 20, n. 7, p. 1716–1723, jul. 2000.

CERNAK, I. et al. Role of the cell cycle in the pathobiology of central nervous system trauma. **Cell Cycle**, Georgetown, v. 4, n. 9, p. 1286–1293, set. 2005.

CHANG, E. F. et al. Heme regulation in traumatic brain injury: relevance to the adult and developing brain. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 25, n. 11, p. 1401–1417, nov. 2005.

CHEN, C.-C. et al. Wogonin improves histological and functional outcomes, and reduces activation of TLR4/NF- κ B signaling after experimental traumatic brain injury. **PloS One**, v. 7, n. 1, p. e30294, 2012.

CHEN, G. et al. Inhibitory effect on cerebral inflammatory response following traumatic brain injury in rats: a potential neuroprotective mechanism of N-acetylcysteine. **Mediators of Inflammation**, v. 2008, p. 716458, 2008.

CHEN, G. et al. Role of the Nrf2-ARE pathway in early brain injury after experimental subarachnoid hemorrhage. **Journal of Neuroscience Research**, v. 89, n. 4, p. 515–523, abr. 2011.

CHEN, J. et al. Early detection of DNA strand breaks in the brain after transient focal ischemia: implications for the role of DNA damage in apoptosis and neuronal cell death. **Journal of Neurochemistry**, v. 69, n. 1, p. 232–245, jul. 1997.

CHEN, L. et al. Lipid peroxidation up-regulates BACE1 expression in vivo: a possible early event of amyloidogenesis in Alzheimer's disease. **Journal of Neurochemistry**, v. 107, n. 1, p. 197–207, out. 2008.

CHEN, S.-F. et al. Post-injury baicalein improves histological and functional outcomes and reduces inflammatory cytokines after

experimental traumatic brain injury. **British Journal of Pharmacology**, v. 155, n. 8, p. 1279–1296, dez. 2008.

CHEN, S.-F. et al. Salidroside improves behavioral and histological outcomes and reduces apoptosis via PI3K/Akt signaling after experimental traumatic brain injury. **PloS One**, v. 7, n. 9, p. e45763, 2012.

CHEN, X. R. et al. Neurological recovery-promoting, anti-inflammatory, and anti-oxidative effects afforded by fenofibrate, a PPAR alpha agonist, in traumatic brain injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 24, n. 7, p. 1119–1131, jul. 2007.

CHENG, W.-H. et al. Cellular Glutathione Peroxidase Knockout Mice Express Normal Levels of Selenium-Dependent Plasma and Phospholipid Hydroperoxide Glutathione Peroxidases in Various Tissues. **The Journal of Nutrition**, v. 127, n. 8, p. 1445–1450, 1 ago. 1997.

CHENG, Z.-G. et al. Expression and antioxidation of Nrf2/ARE pathway in traumatic brain injury. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 6, n. 4, p. 305–310, 13 abr. 2013.

CHOI, D. W. Calcium: still center-stage in hypoxic-ischemic neuronal death. **Trends in Neurosciences**, v. 18, n. 2, p. 58–60, fev. 1995.

CHRISTOFIDES, J. et al. Blood 5-hydroxytryptamine, 5-hydroxyindoleacetic acid and melatonin levels in patients with either Huntington's disease or chronic brain injury. **Journal of Neurochemistry**, v. 97, n. 4, p. 1078–1088, maio 2006.

CIRCU, M. L.; AW, T. Y. Glutathione and modulation of cell apoptosis. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1823, n. 10, p. 1767–1777, out. 2012.

CLAUSEN, F. et al. The nitron free radical scavenger NXY-059 is neuroprotective when administered after traumatic brain injury in the rat. **Journal of Neurotrauma**, v. 25, n. 12, p. 1449–1457, dez. 2008.

CLAUSEN, F. et al. Interstitial F(2)-isoprostane 8-iso-PGF(2 α) as a biomarker of oxidative stress after severe human traumatic brain injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 29, n. 5, p. 766–775, 20 mar. 2012.

CORCORAN, T. B. et al. Are isofurans and neuroprostanes increased after subarachnoid hemorrhage and traumatic brain injury? **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 15, n. 10, p. 2663–2667, 15 nov. 2011.

CORNELIUS, C. et al. Traumatic Brain Injury: Oxidative Stress and Neuroprotection. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 19, n. 8, p. 836–853, 10 set. 2013.

CORONADO, V. G. et al. Surveillance for traumatic brain injury-related deaths--United States, 1997-2007. **Morbidity and Mortality Weekly Report: Surveillance Summaries**, Washington, D.C.: v. 60, n. 5, p. 1–32, 6 maio 2011.

COUSAR, J. L. et al. Heme oxygenase 1 in cerebrospinal fluid from infants and children after severe traumatic brain injury. **Developmental Neuroscience**, v. 28, n. 4-5, p. 342–347, 2006.

CRISTOFORI, L. et al. Early onset of lipid peroxidation after human traumatic brain injury: a fatal limitation for the free radical scavenger pharmacological therapy? **Journal of Investigative medicine: The Official Publication of the American Federation for Clinical Research**, v. 49, n. 5, p. 450–458, set. 2001.

CRISTOFORI, L. et al. Biochemical analysis of the cerebrospinal fluid: evidence for catastrophic energy failure and oxidative damage preceding brain death in severe head injury: a case report. **Clinical Biochemistry**, v. 38, n. 1, p. 97–100, jan. 2005.

CZEITER, E. et al. Brain injury biomarkers may improve the predictive power of the IMPACT outcome calculator. **Journal of Neurotrauma**, v. 29, n. 9, p. 1770–1778, 10 jun. 2012.

DAI, W. et al. Quantitative detection of the expression of mitochondrial cytochrome c oxidase subunits mRNA in the cerebral cortex after

experimental traumatic brain injury. **Brain Research**, v. 1251, p. 287–295, 28 jan. 2009.

DALLE-DONNE, I. et al. S-glutathionylation in protein redox regulation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 43, n. 6, p. 883–898, 15 set. 2007.

DARWISH, R. S.; AMIRIDZE, N.; AARABI, B. Nitrotyrosine as an oxidative stress marker: evidence for involvement in neurologic outcome in human traumatic brain injury. **The Journal of Trauma**, v. 63, n. 2, p. 439–442, ago. 2007.

DASH, P. K. et al. Sulforaphane improves cognitive function administered following traumatic brain injury. **Neuroscience Letters**, v. 460, n. 2, p. 103–107, 28 ago. 2009.

DAVIS, L. M. et al. Fasting is neuroprotective following traumatic brain injury. **Journal of Neuroscience Research**, v. 86, n. 8, p. 1812–1822, jun. 2008.

DEHGHAN, F. et al. Effect of melatonin on intracranial pressure and brain edema following traumatic brain injury: role of oxidative stresses. **Archives of Medical Research**, v. 44, n. 4, p. 251–258, maio 2013.

DEKOSKY, S. T. et al. Time course analysis of hippocampal nerve growth factor and antioxidant enzyme activity following lateral controlled cortical impact brain injury in the rat. **Journal of Neurotrauma**, v. 21, n. 5, p. 491–500, maio 2004.

DEKOSKY, S. T. et al. Effects of post-injury hypothermia and nerve growth factor infusion on antioxidant enzyme activity in the rat: implications for clinical therapies. **Journal of Neurochemistry**, v. 90, n. 4, p. 998–1004, ago. 2004.

DENG, Y. et al. Temporal relationship of peroxynitrite-induced oxidative damage, calpain-mediated cytoskeletal degradation and neurodegeneration after traumatic brain injury. **Experimental Neurology**, v. 205, n. 1, p. 154–165, maio 2007.

DENG-BRYANT, Y. et al. Neuroprotective effects of tempol, a catalytic scavenger of peroxynitrite-derived free radicals, in a mouse traumatic brain injury model. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 28, n. 6, p. 1114–1126, jun. 2008.

DEWITT, D. S.; PROUGH, D. S. Traumatic cerebral vascular injury: the effects of concussive brain injury on the cerebral vasculature. **Journal of Neurotrauma**, v. 20, n. 9, p. 795–825, set. 2003.

DI GIORGIO, A. M. et al. Dimethyl sulfoxide provides neuroprotection in a traumatic brain injury model. **Restorative Neurology and Neuroscience**, v. 26, n. 6, p. 501–507, 2008.

DI GIOVANNI, S. et al. Cell cycle inhibition provides neuroprotection and reduces glial proliferation and scar formation after traumatic brain injury. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 23, p. 8333–8338, 7 jun. 2005.

DOHI, K. et al. Does edaravone (MCI- 186) act as an antioxidant and a neuroprotector in experimental traumatic brain injury? **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 9, n. 2, p. 281–287, fev. 2007.

DOHI, K. et al. Alkoxyl radical-scavenging activity of edaravone in patients with traumatic brain injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 23, n. 11, p. 1591–1599, nov. 2006.

DOURADO, D. F. A. R.; FERNANDES, P. A.; RAMOS, M. J. Mammalian cytosolic glutathione transferases. **Current Protein & Peptide Science**, v. 9, n. 4, p. 325–337, ago. 2008.

DRINGEN, R.; GUTTERER, J. M.; HIRRLINGER, J. Glutathione metabolism in brain metabolic interaction between astrocytes and neurons in the defense against reactive oxygen species. **European Journal of Biochemistry / FEBS**, v. 267, n. 16, p. 4912–4916, ago. 2000.

DRINGEN, R.; PAWLOWSKI, P. G.; HIRRLINGER, J. Peroxide detoxification by brain cells. **Journal of Neuroscience Research**, v. 79, n. 1-2, p. 157–165, 2005.

DRÖSE, S.; BRANDT, U. Molecular mechanisms of superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 748, p. 145–169, 2012.

DURMAZ, R. et al. Lazaroid attenuates edema by stabilizing ATPase in the traumatized rat brain. **The Canadian Journal of Neurological Sciences**, v. 30, n. 2, p. 143–149, maio 2003.

EHREN, J. L.; MAHER, P. Concurrent regulation of the transcription factors Nrf2 and ATF4 mediates the enhancement of glutathione levels by the flavonoid fisetin. **Biochemical Pharmacology**, v. 85, n. 12, p. 1816–1826, 15 jun. 2013.

EISENBERG, H. M. et al. High-dose barbiturate control of elevated intracranial pressure in patients with severe head injury. **Journal of Neurosurgery**, v. 69, n. 1, p. 15–23, jul. 1988.

ELANGO VAN, V.; KOHEN, R.; SHOHAMI, E. Neurological recovery from closed head injury is impaired in diabetic rats. **Journal of Neurotrauma**, v. 17, n. 11, p. 1013–1027, nov. 2000.

ESTERBAUER, H.; SCHAUR, R. J.; ZOLLNER, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 11, n. 1, p. 81–128, 1991.

FABIAN, R. H.; DEWITT, D. S.; KENT, T. A. The 21-aminosteroid U-74389G reduces cerebral superoxide anion concentration following fluid percussion injury of the brain. **Journal of Neurotrauma**, v. 15, n. 6, p. 433–440, jun. 1998.

FAN, P. et al. Age-dependent differences in glutathione peroxidase activity after traumatic brain injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 20, n. 5, p. 437–445, maio 2003.

FARIN, A. et al. Sex-related differences in patients with severe head injury: greater susceptibility to brain swelling in female patients 50 years of age and younger. **Journal of Neurosurgery**, v. 98, n. 1, p. 32–36, jan. 2003.

FARIN, A.; MARSHALL, L. F. Lessons from epidemiologic studies in clinical trials of traumatic brain injury. **Acta Neurochirurgica**, v. 89, p. 101–107, 2004. Supplement.

FARINA, M. et al. Probucol Increases Glutathione Peroxidase-1 Activity and Displays Long-Lasting Protection Against Methylmercury Toxicity in Cerebellar Granule Cells. **Toxicological Sciences**, v. 112, n. 2, p. 416–426, 1 dez. 2009.

FARKAS, O.; LIFSHITZ, J.; POVLISHOCK, J. T. Mechanoporation induced by diffuse traumatic brain injury: an irreversible or reversible response to injury? **The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience**, v. 26, n. 12, p. 3130–3140, 22 mar. 2006.

FINEMAN, I. et al. Concussive brain injury is associated with a prolonged accumulation of calcium: a ⁴⁵Ca autoradiographic study. **Brain Research**, v. 624, n. 1-2, p. 94–102, 8 out. 1993.

FRANCESCA, B.; REZZANI, R. Aquaporin and Blood Brain Barrier. **Current Neuropharmacology**, v. 8, n. 2, p. 92–96, jun. 2010.

FRICKER, G.; MILLER, D. S. Modulation of Drug Transporters at the Blood-Brain Barrier. **Pharmacology**, v. 70, n. 4, p. 169–176, 2004.

FUJITA, M. et al. The combination of either tempol or FK506 with delayed hypothermia: implications for traumatically induced microvascular and axonal protection. **Journal of Neurotrauma**, v. 28, n. 7, p. 1209–1218, jul. 2011.

GATSON, J. W. et al. Resveratrol decreases inflammation in the brain of mice with mild traumatic brain injury. **The Journal of Trauma and Acute Care Surgery**, v. 74, n. 2, p. 470–474; discussion 474–475, fev. 2013.

GAVRIELI, Y.; SHERMAN, Y.; BEN-SASSON, S. A. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. **The Journal of Cell Biology**, v. 119, n. 3, p. 493–501, nov. 1992.

GENNARELLI, T. A. Mechanisms of brain injury. **The Journal of Emergency Medicine**, v. 11 Suppl 1, p. 5–11, 1993.

GIULIAN, D. et al. The role of mononuclear phagocytes in wound healing after traumatic injury to adult mammalian brain. **The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience**, v. 9, n. 12, p. 4416–4429, dez. 1989.

GONG, P. et al. Mild hypothermia attenuates mitochondrial oxidative stress by protecting respiratory enzymes and upregulating MnSOD in a pig model of cardiac arrest. **PloS One**, v. 7, n. 4, p. e35313, 2012.

GORDON, C. R. et al. Effect of murine recombinant interleukin-1 on brain oedema in the rat. **Acta Neurochirurgica**, v. 51, p. 268–270, 1990. Supplementum.

GOURIOU, Y. et al. Mitochondrial calcium handling during ischemia-induced cell death in neurons. **Biochimie**, v. 93, n. 12, p. 2060–2067, dez. 2011.

GRÄNDE, P.-O.; REINSTRUP, P.; ROMNER, B. Active cooling in traumatic brain-injured patients: a questionable therapy? **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**, v. 53, n. 10, p. 1233–1238, 2009.

GWAG, B. J. et al. Calcium ionophores can induce either apoptosis or necrosis in cultured cortical neurons. **Neuroscience**, v. 90, n. 4, p. 1339–1348, 1999.

HALL, E. D.; BRAUGHLER, J. M. Free radicals in CNS injury. **Research Publications - Association for Research in Nervous and Mental Disease**, v. 71, p. 81–105, 1993.

HALL, E. D.; VAISHNAV, R. A.; MUSTAFA, A. G. Antioxidant therapies for traumatic brain injury. **Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics**, v. 7, n. 1, p. 51–61, jan. 2010.

HALLIWELL, B. The wanderings of a free radical. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 46, n. 5, p. 531–542, 1 mar. 2009.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 4. ed. New York: Oxford University Press, USA, 2007.

HAMM, R. J. et al. The effect of postinjury administration of polyethylene glycol-conjugated superoxide dismutase (pegorgotein, Dismutec) or lidocaine on behavioral function following fluid-percussion brain injury in rats. **Journal of Neurotrauma**, v. 13, n. 6, p. 325–332, jun. 1996.

HARDERS, A.; KAKARIEKA, A.; BRAAKMAN, R. Traumatic subarachnoid hemorrhage and its treatment with nimodipine. German tSAH Study Group. **Journal of Neurosurgery**, v. 85, n. 1, p. 82–89, jul. 1996.

HARRIS, J. L. et al. Altered neurochemical profile after traumatic brain injury: (1)H-MRS biomarkers of pathological mechanisms. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 32, n. 12, p. 2122–2134, dez. 2012.

HILLERED, L.; VESPA, P. M.; HOVDA, D. A. Translational neurochemical research in acute human brain injury: the current status and potential future for cerebral microdialysis. **Journal of Neurotrauma**, v. 22, n. 1, p. 3–41, jan. 2005.

HOFFER, M. E. et al. Amelioration of acute sequelae of blast induced mild traumatic brain injury by N-acetyl cysteine: a double-blind, placebo controlled study. **PloS One**, v. 8, n. 1, p. e54163, 2013.

HOHL, A. et al. Plasma levels of oxidative stress biomarkers and hospital mortality in severe head injury: a multivariate analysis. **Journal of Critical Care**, v. 27, n. 5, p. 523.e11–19, out. 2012.

HOLMGREN, A.; LU, J. Thioredoxin and thioredoxin reductase: Current research with special reference to human disease. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 396, n. 1, p. 120–124, 21 maio 2010.

HOMSI, S. et al. Minocycline effects on cerebral edema: relations with inflammatory and oxidative stress markers following traumatic brain injury in mice. **Brain Research**, v. 1291, p. 122–132, 29 set. 2009.

HONG, Y. et al. The role of Nrf2 signaling in the regulation of antioxidants and detoxifying enzymes after traumatic brain injury in rats and mice. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 31, n. 11, p. 1421–1430, nov. 2010.

HOU, Z. et al. Hydrogen-rich saline protects against oxidative damage and cognitive deficits after mild traumatic brain injury. **Brain Research Bulletin**, v. 88, n. 6, p. 560–565, 1 set. 2012.

HU, B.-Y. et al. [Effective dose and time window of ginseng total saponins treatment in rat after traumatic brain injury]. **Chinese Journal of Applied Physiology**, v. 28, n. 2, p. 179–183, mar. 2012.

HUNTER, D. R.; HAWORTH, R. A. The Ca^{2+} -induced membrane transition in mitochondria. III. Transitional Ca^{2+} release. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 195, n. 2, p. 468–477, jul. 1979.

HYDER, A. A. et al. The impact of traumatic brain injuries: a global perspective. **NeuroRehabilitation**, v. 22, n. 5, p. 341–353, 2007.

IKEDA, Y. et al. Protective effect of a novel vitamin E derivative on experimental traumatic brain edema in rats--preliminary study. **Acta Neurochirurgica**, v. 76, p. 343–345, 2000. Supplement.

IMLAY, J. A. Pathways of Oxidative Damage. **Annual Review of Microbiology**, v. 57, n. 1, p. 395–418, 2003.

INCI, S.; OZCAN, O. E.; KILINÇ, K. Time-level relationship for lipid peroxidation and the protective effect of alpha-tocopherol in experimental mild and severe brain injury. **Neurosurgery**, v. 43, n. 2, p. 330–335; discussion 335–336, ago. 1998.

ITOH, K. et al. An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements. **Biochemical and Biophysical Research communications**, v. 236, n. 2, p. 313–322, 18 jul. 1997.

ITOH, T. et al. Effect of allopurinol on ischemia and reperfusion-induced cerebral injury in spontaneously hypertensive rats. **Stroke: a Journal of Cerebral Circulation**, v. 17, n. 6, p. 1284–1287, dez. 1986.

ITOH, T. et al. The novel free radical scavenger, edaravone, increases neural stem cell number around the area of damage following rat traumatic brain injury. **Neurotoxicity Research**, v. 16, n. 4, p. 378–389, nov. 2009.

ITOH, T. et al. Edaravone protects against apoptotic neuronal cell death and improves cerebral function after traumatic brain injury in rats. **Neurochemical Research**, v. 35, n. 2, p. 348–355, fev. 2010.

ITOH, T. et al. (–)-Epigallocatechin-3-gallate Protects Against Neuronal Cell Death and Improves Cerebral Function After Traumatic Brain Injury in Rats. **NeuroMolecular Medicine**, v. 13, n. 4, p. 300–309, 25 out. 2011.

ITOH, T. et al. (–)-Epigallocatechin-3-gallate increases the number of neural stem cells around the damaged area after rat traumatic brain injury. **Journal of Neural Transmission**, v. 119, n. 8, p. 877–890, 4 jan. 2012.

ITOH, T. et al. Neuroprotective effect of (–)-epigallocatechin-3-gallate in rats when administered pre- or post-traumatic brain injury. **Journal of Neural Transmission**, 21 nov. 2012.

ITOH, T. et al. Increased apoptotic neuronal cell death and cognitive impairment at early phase after traumatic brain injury in aged rats. **Brain Structure & Function**, v. 218, n. 1, p. 209–220, jan. 2013.

JAIN, A. K.; BLOOM, D. A.; JAISWAL, A. K. Nuclear import and export signals in control of Nrf2. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 32, p. 29158–29168, 12 ago. 2005.

JAYAKUMAR, A. R. et al. Trauma-induced cell swelling in cultured astrocytes. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, v. 67, n. 5, p. 417–427, maio 2008.

Ji, X. et al. Beneficial effects of hydrogen gas in a rat model of traumatic brain injury via reducing oxidative stress. **Brain Research**, v. 1354, p. 196–205, 1 out. 2010.

Ji, X. et al. Protective effects of hydrogen-rich saline in a rat model of traumatic brain injury via reducing oxidative stress. **The Journal of Surgical Research**, v. 178, n. 1, p. e9–16, nov. 2012.

Ji, Y. C. et al. Neuroprotective effect of ginseng total saponins in experimental traumatic brain injury. **Journal of Korean Medical Science**, v. 20, n. 2, p. 291–296, abr. 2005.

JIANG, X. et al. Protective effects of hydrogen sulfide in a rat model of traumatic brain injury via activation of mitochondrial adenosine triphosphate-sensitive potassium channels and reduction of oxidative stress. **The Journal of Surgical Research**, 8 abr. 2013.

JIN, W. et al. Disruption of Nrf2 enhances upregulation of nuclear factor-kappaB activity, proinflammatory cytokines, and intercellular adhesion molecule-1 in the brain after traumatic brain injury. **Mediators of Inflammation**, v. 2008, p. 725174, 2008.

JIN, W. et al. Role of Nrf2 in Protection against Traumatic Brain Injury in Mice. **Journal of Neurotrauma**, v. 26, n. 1, p. 131–139, jan. 2009.

JIN, W. et al. Protective effect of tert-butylhydroquinone on cerebral inflammatory response following traumatic brain injury in mice. **Injury**, v. 42, n. 7, p. 714–718, jul. 2011.

JONES, T. H. et al. Thresholds of focal cerebral ischemia in awake monkeys. **Journal of Neurosurgery**, v. 54, n. 6, p. 773–782, jun. 1981.

KABADI, S. V.; MAHER, T. J. Posttreatment with uridine and melatonin following traumatic brain injury reduces edema in various brain regions in rats. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1199, p. 105–113, jun. 2010.

KAHLES, T. et al. NADPH Oxidase Plays a Central Role in Blood-Brain Barrier Damage in Experimental. **Stroke**, v. 38, n. 11, p. 3000–3006, 1 nov. 2007.

KAMP, M. A. et al. Traumatic brain injuries in the ancient Egypt: insights from the Edwin Smith Papyrus. **Journal of Neurological Surgery**, v. 73, n. 4, p. 230–237, ago. 2012.

KANG, S. W. et al. 2-Cys peroxiredoxin function in intracellular signal transduction: therapeutic implications. **Trends in Molecular Medicine**, v. 11, n. 12, p. 571–578, dez. 2005.

KATADA, R. et al. Prior ethanol injection promotes brain edema after traumatic brain injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 26, n. 11, p. 2015–2025, nov. 2009.

KAWAMATA, T. et al. Antioxidant, OPC-14117, attenuates edema formation and behavioral deficits following cortical contusion in rats. **Acta Neurochirurgica**, v. 70, p. 191–193, 1997. Supplement.

KELSO, M. L. et al. Melatonin and minocycline for combinatorial therapy to improve functional and histopathological deficits following traumatic brain injury. **Neuroscience Letters**, v. 488, n. 1, p. 60–64, 13 jan. 2011.

KERMAN, M. et al. Neuroprotective effects of caffeic acid phenethyl ester on experimental traumatic brain injury in rats. **Journal of Molecular Histology**, v. 43, n. 1, p. 49–57, fev. 2012.

KEVIL, C. G. et al. H₂O₂-mediated permeability: role of MAPK and occludin. **American Journal of Physiology - Cell Physiology**, v. 279, n. 1, p. C21–C30, 1 jul. 2000.

KHAN, M. et al. S-nitrosoglutathione reduces oxidative injury and promotes mechanisms of neurorepair following traumatic brain injury in rats. **Journal of Neuroinflammation**, v. 8, p. 78, 2011.

KIM, K. S. et al. Modulation of blood-brain barrier permeability by tumor necrosis factor and antibody to tumor necrosis factor in the rat. **Lymphokine and Cytokine Research**, v. 11, n. 6, p. 293–298, dez. 1992.

KNOBLACH, S. M.; FAN, L.; FADEN, A. I. Early neuronal expression of tumor necrosis factor- α after experimental brain injury

contributes to neurological impairment. **Journal of Neuroimmunology**, v. 95, n. 1-2, p. 115–125, 1 mar. 1999.

KOCHANNEK, P. M. et al. Biomarkers of primary and evolving damage in traumatic and ischemic brain injury: diagnosis, prognosis, probing mechanisms, and therapeutic decision making. **Current Opinion in Critical Care**, v. 14, n. 2, p. 135–141, abr. 2008.

KOCHANNEK, P. M. et al. Screening of Biochemical and Molecular Mechanisms of Secondary Injury and Repair in the Brain after Experimental Blast-Induced Traumatic Brain Injury in Rats. **Journal of Neurotrauma**, 17 mar. 2013.

KOIZUMI, M. S. et al. [Morbidity and mortality due to traumatic brain injury in São Paulo City, Brazil, 1997]. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 58, n. 1, p. 81–89, mar. 2000.

KONTOS, H. A.; POVLISHOCK, J. T. Oxygen radicals in brain injury. **Central Nervous System Trauma: Journal of the American Paralysis Association**, v. 3, n. 4, p. 257–263, 1986.

KOWALTOWSKI, A. J.; VERCESI, A. E. Mitochondrial damage induced by conditions of oxidative stress. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 3-4, p. 463–471, fev. 1999.

KROEMER, G. et al. The biochemistry of programmed cell death. **FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 9, n. 13, p. 1277–1287, out. 1995.

KUMAR, A. et al. Involvement of NADPH oxidase and glutathione in zinc-induced dopaminergic neurodegeneration in rats: Similarity with paraquat neurotoxicity. **Brain Research**, v. 1438, n. 0, p. 48–64, Fevereiro 2012.

KUO, J.-R. et al. Attenuation of brain nitrostatic and oxidative damage by brain cooling during experimental traumatic brain injury. **Journal of Biomedicine & Biotechnology**, v. 2011, p. 145214, 2011.

LARSON, B. E. et al. Cardiac reactive oxygen species after traumatic brain injury. **The Journal of Surgical Research**, v. 173, n. 2, p. e73–81, abr. 2012.

LEONARDO, C. C.; DORE, S. Dietary flavonoids are neuroprotective through Nrf2-coordinated induction of endogenous cytoprotective proteins. **Nutritional Neuroscience**, v. 14, n. 5, p. 226–236, set. 2011.

LEONARDO, C. C.; DORE, S. Dietary flavonoids are neuroprotective through Nrf2-coordinated induction of endogenous cytoprotective proteins. **Nutritional Neuroscience**, v. 14, n. 5, p. 226–236, set. 2011.

LIMA, F. D. et al. Na⁺,K⁺-ATPase activity impairment after experimental traumatic brain injury: Relationship to spatial learning deficits and oxidative stress. **Behavioural Brain Research**, v. 193, n. 2, p. 306–310, 21 nov. 2008.

LIMA, F. D. et al. Adaptation to oxidative challenge induced by chronic physical exercise prevents Na⁺,K⁺-ATPase activity inhibition after traumatic brain injury. **Brain Research**, v. 1279, p. 147–155, 7 jul. 2009.

LING, G. S. F.; NEAL, C. J. Maintaining cerebral perfusion pressure is a worthy clinical goal. **Neurocritical Care**, v. 2, n. 1, p. 75–81, 2005.

LIU, P. K. et al. Damage, repair, and mutagenesis in nuclear genes after mouse forebrain ischemia-reperfusion. **The Journal of Neuroscience: the Official Journal of the Society for Neuroscience**, v. 16, n. 21, p. 6795–6806, 1 nov. 1996.

LIU, W. G. et al. Effects of selective brain cooling in patients with severe traumatic brain injury: a preliminary study. **The Journal of International Medical Research**, v. 34, n. 1, p. 58–64, fev. 2006.

LOIDL-STÄHLHOFEN, A.; HANNEMANN, K.; SPITELLER, G. Generation of alpha-hydroxyaldehydic compounds in the course of lipid peroxidation. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1213, n. 2, p. 140–148, 14 jul. 1994.

LOK, J. et al. γ -glutamylcysteine ethyl ester protects cerebral endothelial cells during injury and decreases blood-brain barrier permeability after experimental brain trauma. **Journal of Neurochemistry**, v. 118, n. 2, p. 248–255, jul. 2011.

LOMNITSKI, L. et al. Antioxidant mechanisms in apolipoprotein E deficient mice prior to and following closed head injury. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1453, n. 3, p. 359–368, 30 mar. 1999.

LOW, F. M. **The antioxidant activity of erythrocyte peroxiredoxin 2 and its role in protecting haemoglobin**. Tese de doutorado. New Zeland: University of Otago, 2007.

LU, J.; HOLMGREN, A. Thioredoxin System in Cell Death Progression. **Antioxidants & Redox Signaling**, p. 120611124142004, 11 jun. 2012.

MAAS, A. I. et al. Questioning the value of intracranial pressure (ICP) monitoring in patients with brain injuries. **The Journal of Trauma**, v. 65, n. 4, p. 966–967, out. 2008.

MAAS, A. I. R. et al. Efficacy and safety of dexamethasone in severe traumatic brain injury: results of a phase III randomised, placebo-controlled, clinical trial. **Lancet Neurology**, v. 5, n. 1, p. 38–45, jan. 2006.

MAHER, P. The effects of stress and aging on glutathione metabolism. **Ageing Research Reviews**, v. 4, n. 2, p. 288–314, maio 2005.

MANLEY, G. T. et al. Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke. **Nature Medicine**, v. 6, n. 2, p. 159–163, fev. 2000.

MARKLUND, N. et al. Free radical scavenger posttreatment improves functional and morphological outcome after fluid percussion injury in the rat. **Journal of Neurotrauma**, v. 18, n. 8, p. 821–832, ago. 2001.

MARKLUND, N. et al. Effects of the nitron radical scavengers PBN and S-PBN on in vivo trapping of reactive oxygen species after traumatic brain injury in rats. **Journal of Cerebral Blood Flow and**

Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism, v. 21, n. 11, p. 1259–1267, nov. 2001.

MARKLUND, N. et al. Effect of traumatic brain injury and nitron radical scavengers on relative changes in regional cerebral blood flow and glucose uptake in rats. **Journal of Neurotrauma**, v. 19, n. 10, p. 1139–1153, out. 2002.

MARSHALL, L. F. et al. A multicenter trial on the efficacy of using tirilazad mesylate in cases of head injury. **Journal of Neurosurgery**, v. 89, n. 4, p. 519–525, out. 1998.

MARSHALL, L. F.; MARSHALL, S. B.; KLAUBER, M. R. A new classification of head injury based on computerized tomography. **Journal of Neurosurgery**, v. 75, p. S14–20, 1991.

MARTINS, E. T. et al. Mortality in severe traumatic brain injury: a multivariate analysis of 748 Brazilian patients from Florianópolis City. **The Journal of Trauma**, v. 67, n. 1, p. 85–90, jul. 2009.

MASET, A. L. et al. Epidemiologic features of head injury in Brazil. **Arquivos Brasileiros de Neurocirurgia**, v. 12, n. 4, p. 293–302, 1993.

MBYE, L. H. et al. Attenuation of acute mitochondrial dysfunction after traumatic brain injury in mice by NIM811, a non-immunosuppressive cyclosporin A analog. **Experimental Neurology**, v. 209, n. 1, p. 243–253, jan. 2008.

MEGYERI, P. et al. Recombinant human tumor necrosis factor alpha constricts pial arterioles and increases blood-brain barrier permeability in newborn piglets. **Neuroscience Letters**, v. 148, n. 1-2, p. 137–140, 14 dez. 1992.

MEISTER, A. Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals. **The Journal of Biological chemistry**, v. 269, n. 13, p. 9397–9400, 1 abr. 1994.

MENDEZ, D. R. et al. Oxidative DNA lesions in a rodent model of traumatic brain injury. **The Journal of Trauma**, v. 56, n. 6, p. 1235–1240, jun. 2004.

MERRILL, J. E.; BENVENISTE, E. N. Cytokines in inflammatory brain lesions: helpful and harmful. **Trends in Neurosciences**, v. 19, n. 8, p. 331–338, ago. 1996.

MÉSENGE, C. et al. Protective effect of melatonin in a model of traumatic brain injury in mice. **Journal of Pineal Research**, v. 25, n. 1, p. 41–46, ago. 1998.

MITOZO, P. A. et al. A study of the relative importance of the peroxiredoxin-, catalase-, and glutathione-dependent systems in neural peroxide metabolism. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 51, n. 1, p. 69–77, 1 jul. 2011.

MIYAMOTO, K. et al. Therapeutic time window for edaravone treatment of traumatic brain injury in mice. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 379206, 2013.

MIYAMOTO, K. et al. Edaravone increases regional cerebral blood flow after traumatic brain injury in mice. **Acta neurochirurgica**, v. 118, p. 103–109, 2013. Supplement.

MOOR, E. et al. Impairment of the ability of the injured aged brain in elevating urate and ascorbate. **Experimental Gerontology**, v. 41, n. 3, p. 303–311, mar. 2006.

MORGANTI-KOSSMANN, M. C.; KOSSMANN, T.; WAHL, S. M. Cytokines and neuropathology. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 13, n. 7, p. 286–291, jul. 1992.

MORI, T. et al. Antioxidant, OPC-14117, attenuates edema formation, and subsequent tissue damage following cortical contusion in rats. **Acta Neurochirurgica**, v. 71, p. 120–122, 1998. Supplement.

MUIR, J. K. et al. Superoxide dismutase improves posttraumatic cortical blood flow in rats. **Journal of Neurotrauma**, v. 12, n. 2, p. 179–188, abr. 1995.

MUIZELAAR, J. P. et al. Improving the outcome of severe head injury with the oxygen radical scavenger polyethylene glycol-conjugated

superoxide dismutase: a phase II trial. **Journal of Neurosurgery**, v. 78, n. 3, p. 375–382, mar. 1993.

MUMBENGEGWI, D. R. et al. Evidence for a Superoxide Permeability Pathway in Endosomal Membranes. **Molecular and Cellular Biology**, v. 28, n. 11, p. 3700–3712, 1 jun. 2008.

MURRAY, C. J.; LOPEZ, A. D. Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. **Lancet**, v. 349, n. 9063, p. 1436–1442, 17 maio 1997.

MUSTAFA, A. G. et al. Mitochondrial protection after traumatic brain injury by scavenging lipid peroxyl radicals. **Journal of Neurochemistry**, v. 114, n. 1, p. 271–280, jul. 2010.

NAYAK, C. et al. Time-level relationship between indicators of oxidative stress and Glasgow Coma Scale scores of severe head injury patients. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 44, n. 4, p. 460–463, 2006.

NAYAK, C. et al. Relationship between markers of lipid peroxidation, thiol oxidation and Glasgow coma scale scores of moderate head injury patients in the 7 day post-traumatic period. **Neurological Research**, v. 30, n. 5, p. 461–464, jun. 2008.

NAYAK, C. D. et al. Time-relative changes in the erythrocyte antioxidant enzyme activities and their relationship with Glasgow Coma Scale scores in severe head injury patients in the 21-day posttraumatic study period. **Indian Journal of Medical Sciences**, v. 61, n. 7, p. 381–389, jul. 2007.

NAYAK, C. D. et al. Erythrocyte indicators of oxidative changes in patients with graded traumatic head injury. **Neurology India**, v. 56, n. 1, p. 31–35, mar. 2008.

NIMJEE, S. M. et al. Blood-Brain Barrier. In: **Youmanns: Neurological Surgery**. 6. ed. Philadelphia: Elsevier, 2011. v. 1, p. 147–61.

NORTH, S. H. et al. Rapid analytical methods for on-site triage for traumatic brain injury. **Annual Review of Analytical Chemistry**, Palo Alto, v. 5, p. 35–56, 2012.

OHTA, M. et al. Attenuation of axonal injury and oxidative stress by edaravone protects against cognitive impairments after traumatic brain injury. **Brain Research**, v. 1490, p. 184–192, 15 jan. 2013.

OPII, W. O. et al. Proteomic Identification of Oxidized Mitochondrial Proteins following Experimental Traumatic Brain Injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 24, n. 5, p. 772–789, maio 2007.

OSBURN, W. O. et al. Nrf2 regulates an adaptive response protecting against oxidative damage following diquat-mediated formation of superoxide anion. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 454, n. 1, p. 7–15, 1 out. 2006.

OWUOR, E. D.; KONG, A.-N. T. Antioxidants and oxidants regulated signal transduction pathways. **Biochemical Pharmacology**, v. 64, n. 5–6, p. 765–770, set. 2002.

OZDEMIR, D. et al. Effect of melatonin on brain oxidative damage induced by traumatic brain injury in immature rats. **Physiological Research**, v. 54, n. 6, p. 631–637, 2005.

OZDEMIR, D. et al. Protective effect of melatonin against head trauma-induced hippocampal damage and spatial memory deficits in immature rats. **Neuroscience Letters**, v. 385, n. 3, p. 234–239, 16 set. 2005.

OZTURK, E. et al. Antioxidant properties of propofol and erythropoietin after closed head injury in rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 29, n. 6, p. 922–927, jul. 2005.

OZTÜRK, E. et al. Propofol and erythropoietin antioxidant properties in rat brain injured tissue. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 32, n. 1, p. 81–86, 1 jan. 2008.

PANDEY, A. K. et al. The role of ASIC1a in neuroprotection elicited by quercetin in focal cerebral ischemia. **Brain Research**, 31 jan. 2011.

PANDYA, J. D. et al. Post-Injury Administration of Mitochondrial Uncouplers Increases Tissue Sparing and Improves Behavioral Outcome following Traumatic Brain Injury in Rodents. **Journal of Neurotrauma**, v. 24, n. 5, p. 798–811, maio 2007.

PANDYA, J. D.; PAULY, J. R.; SULLIVAN, P. G. The optimal dosage and window of opportunity to maintain mitochondrial homeostasis following traumatic brain injury using the uncoupler FCCP. **Experimental Neurology**, v. 218, n. 2, p. 381–389, ago. 2009.

PAPADIMOS, T. J.; MEDHKOUR, A.; YERMAL, S. Successful use of inhaled nitric oxide to decrease intracranial pressure in a patient with severe traumatic brain injury complicated by acute respiratory distress syndrome: a role for an anti-inflammatory mechanism? **Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine**, v. 17, p. 5, 2009.

PARDRIDGE, W. M. Molecular biology of the blood-brain barrier. **Molecular Biotechnology**, v. 30, n. 1, p. 57–69, 1 maio 2005.

PEREZ-VIZCAINO, F.; DUARTE, J.; SANTOS-BUELGA, C. The flavonoid paradox: conjugation and deconjugation as key steps for the biological activity of flavonoids. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 9, p. 1822–1825, jul. 2012.

PETRONILHO, F. et al. Oxidative stress in brain according to traumatic brain injury intensity. **The Journal of Surgical Research**, v. 164, n. 2, p. 316–320, dez. 2010.

PETTY, M. A. et al. Reduction of traumatic brain injury-induced cerebral oedema by a free radical scavenger. **European Journal of Pharmacology**, v. 307, n. 2, p. 149–155, 27 jun. 1996.

POTTS, M. B. et al. Traumatic injury to the immature brain: inflammation, oxidative injury, and iron-mediated damage as potential therapeutic targets. **NeuroRx: the Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics**, v. 3, n. 2, p. 143–153, abr. 2006.

POTTS, M. B. et al. Glutathione peroxidase overexpression does not rescue impaired neurogenesis in the injured immature brain. **Journal of Neuroscience Research**, v. 87, n. 8, p. 1848–1857, jun. 2009.

PRATICÒ, D. et al. Local Amplification of Platelet Function by 8-Epi Prostaglandin F2 α Is Not Mediated by Thromboxane Receptor Isoforms. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 25, p. 14916–14924, 21 jun. 1996.

PRYOR, W. A.; PORTER, N. A. Suggested mechanisms for the production of 4-hydroxy-2-nonenal from the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 8, n. 6, p. 541–543, 1990.

PUCCIO, A. M. et al. Effect of Short Periods of Normobaric Hyperoxia on Local Brain Tissue Oxygenation and Cerebrospinal Fluid Oxidative Stress Markers in Severe Traumatic Brain Injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 26, n. 8, p. 1241–1249, ago. 2009.

PUN, P. B. L.; LU, J.; MOOCHHALA, S. Involvement of ROS in BBB dysfunction. **Free Radical Research**, v. 43, n. 4, p. 348–364, abr. 2009.

QIU, W. et al. Effects of therapeutic mild hypothermia on patients with severe traumatic brain injury after craniotomy. **Journal of Critical Care**, v. 22, n. 3, p. 229–235, set. 2007.

RAABE, A. et al. Correlation of computed tomography findings and serum brain damage markers following severe head injury. **Acta Neurochirurgica**, v. 140, n. 8, p. 787–791; discussion 791–792, 1998.

RAABE, A.; GROLMS, C.; SEIFERT, V. Serum markers of brain damage and outcome prediction in patients after severe head injury. **British Journal of Neurosurgery**, v. 13, n. 1, p. 56–59, fev. 1999.

RAEL, L. T. et al. Plasma oxidation-reduction potential and protein oxidation in traumatic brain injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 26, n. 8, p. 1203–1211, ago. 2009.

READNOWER, R. D. et al. Increase in Blood Brain Barrier Permeability, Oxidative Stress, and Activated Microglia in a Rat Model

of Blast Induced Traumatic Brain Injury. **Journal of Neuroscience Research**, v. 88, n. 16, p. 3530–3539, dez. 2010.

READNOWER, R. D. et al. Post-injury administration of the mitochondrial permeability transition pore inhibitor, NIM811, is neuroprotective and improves cognition after traumatic brain injury in rats. **Journal of Neurotrauma**, v. 28, n. 9, p. 1845–1853, set. 2011.

REIBER, H.; PETER, J. B. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 184, n. 2, p. 101–122, 1 mar. 2001.

RHEE, S. G. et al. Controlled Elimination of Intracellular H₂O₂ : Regulation of Peroxiredoxin, Catalase, and Glutathione Peroxidase via Post-translational Modification. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 7, n. 5-6, p. 619–626, maio 2005.

RIDNOUR, L. A. et al. The chemistry of nitrosative stress induced by nitric oxide and reactive nitrogen oxide species. Putting perspective on stressful biological situations. **Biological Chemistry**, v. 385, n. 1, p. 1–10, jan. 2004.

RIGG, J. L.; ELOVIC, E. P.; GREENWALD, B. D. A review of the effectiveness of antioxidant therapy to reduce neuronal damage in acute traumatic brain injury. **The Journal of Head Trauma Rehabilitation**, v. 20, n. 4, p. 389–391, ago. 2005.

ROBERTS, I. et al. Effect of intravenous corticosteroids on death within 14 days in 10008 adults with clinically significant head injury (MRC CRASH trial): randomised placebo-controlled trial. **Lancet**, v. 364, n. 9442, p. 1321–1328, 9 out. 2004.

SAATMAN, K. E. et al. Classification of traumatic brain injury for targeted therapies. **Journal of Neurotrauma**, v. 25, n. 7, p. 719–738, jul. 2008.

SAHUQUILLO, J.; POCA, M. A.; AMOROS, S. Current aspects of pathophysiology and cell dysfunction after severe head injury. **Current Pharmaceutical Design**, v. 7, n. 15, p. 1475–1503, out. 2001.

SAMINI, F. et al. Curcumin pretreatment attenuates brain lesion size and improves neurological function following traumatic brain injury in the rat. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, 7 ago. 2013.

SANDLER, S. J. I.; FIGAJI, A. A.; ADELSON, P. D. Clinical applications of biomarkers in pediatric traumatic brain injury. **Child's Nervous System: Official Journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery**, v. 26, n. 2, p. 205–213, fev. 2010.

SANIOVA, B. et al. Biochemical and clinical improvement of cytotoxic state by amantadine sulphate. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 26, n. 7-8, p. 1475–1482, nov. 2006.

SANTOS, A. et al. Catalase activity and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) production in a rat model of diffuse axonal injury. Effect of gadolinium and amiloride. **Neurochemical Research**, v. 30, n. 5, p. 625–631, maio 2005.

SAYKALLY, J. N. et al. The nuclear factor erythroid 2-like 2 activator, tert-butylhydroquinone, improves cognitive performance in mice after mild traumatic brain injury. **Neuroscience**, v. 223, p. 305–314, 25 out. 2012.

SCHEFF, S. W.; ANSARI, M. A.; ROBERTS, K. N. Neuroprotective effect of Pycnogenol® following traumatic brain injury. **Experimental Neurology**, v. 239, p. 183–191, jan. 2013.

SCHMITZ, A. **Interação entre a administração crônica de curcumina e manganês sobre os parâmetros comportamentais e neuroquímicos em camundongos**. Dissertação de Mestrado. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.

SCHÜLTKE, E. et al. Neuroprotection following fluid percussion brain trauma: a pilot study using quercetin. **Journal of Neurotrauma**, v. 22, n. 12, p. 1475–1484, dez. 2005.

SCHWARZBOLD, M. L. et al. Effects of traumatic brain injury of different severities on emotional, cognitive, and oxidative stress-related parameters in mice. **Journal of Neurotrauma**, v. 27, n. 10, p. 1883–1893, out. 2010.

SEIFMAN, M. A. et al. Endogenous melatonin increases in cerebrospinal fluid of patients after severe traumatic brain injury and correlates with oxidative stress and metabolic disarray. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 28, n. 4, p. 684–696, abr. 2008.

SELAKOVIĆ, V. et al. Brain oxidative stress in the syndrome of mutual aggravation on the model of combined injury in Mongolian gerbils. **Vojnosanitetski Pregled. Military-Medical and Pharmaceutical Review**, v. 58, n. 5, p. 463–469, out. 2001.

SELMAJ, K. W.; RAINE, C. S. Tumor necrosis factor mediates myelin and oligodendrocyte damage in vitro. **Annals of Neurology**, v. 23, n. 4, p. 339–346, abr. 1988.

SHAO, C. et al. Oxidative stress in head trauma in aging. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 41, n. 1, p. 77–85, 1 jul. 2006.

SHAPIRA, Y. et al. Accumulation of calcium in the brain following head trauma. **Neurological Research**, v. 11, n. 3, p. 169–172, set. 1989.

SHARMA, P. et al. Role of pyruvate dehydrogenase complex in traumatic brain injury and Measurement of pyruvate dehydrogenase enzyme by dipstick test. **Journal of Emergencies, Trauma, and Shock**, v. 2, n. 2, p. 67–72, maio 2009.

SHARMA, R.; LASKOWITZ, D. T. Biomarkers in Traumatic Brain Injury. **Current Neurology and Neuroscience Reports**, v. 12, n. 5, p. 560–569, 19 jul. 2012.

SHARMA, S. et al. Dietary curcumin supplementation counteracts reduction in levels of molecules involved in energy homeostasis after brain trauma. **Neuroscience**, v. 161, n. 4, p. 1037–1044, 21 jul. 2009.

SHARMA, S.; YING, Z.; GOMEZ-PINILLA, F. A pyrazole curcumin derivative restores membrane homeostasis disrupted after brain trauma. **Experimental Neurology**, v. 226, n. 1, p. 191–199, nov. 2010.

SHIH, A. Y.; LI, P.; MURPHY, T. H. A small-molecule-inducible Nrf2-mediated antioxidant response provides effective prophylaxis against cerebral ischemia in vivo. **The Journal of Neuroscience: the Official Journal of the Society for Neuroscience**, v. 25, n. 44, p. 10321–10335, 2 nov. 2005.

SHOHAMI, E. et al. Closed head injury in the rat induces whole body oxidative stress: overall reducing antioxidant profile. **Journal of Neurotrauma**, v. 16, n. 5, p. 365–376, maio 1999.

SIES, H. Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants. **Experimental Physiology**, v. 82, n. 2, p. 291–295, 1 mar. 1997.

SILVA, L. F. A. et al. The involvement of Na⁺, K⁺-ATPase activity and free radical generation in the susceptibility to pentylentetrazol-induced seizures after experimental traumatic brain injury. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 308, n. 1-2, p. 35–40, 15 set. 2011.

SILVA, L. F. A. et al. Treadmill exercise protects against pentylentetrazol-induced seizures and oxidative stress after traumatic brain injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 30, n. 14, p. 1278–1287, 15 jul. 2013.

SINGLETON, R. H. et al. Resveratrol attenuates behavioral impairments and reduces cortical and hippocampal loss in a rat controlled cortical impact model of traumatic brain injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 27, n. 6, p. 1091–1099, jun. 2010.

SOARES, H. D. et al. Inflammatory leukocytic recruitment and diffuse neuronal degeneration are separate pathological processes resulting from traumatic brain injury. **The Journal of Neuroscience: the Official Journal of the Society for Neuroscience**, v. 15, n. 12, p. 8223–8233, dez. 1995.

SOLAROGLU, I. et al. Increased xanthine oxidase activity after traumatic brain injury in rats. **Journal of Clinical Neuroscience**, v. 12, n. 3, p. 273–275, abr. 2005.

SÖNMEZ, U. et al. Neuroprotective effects of resveratrol against traumatic brain injury in immature rats. **Neuroscience Letters**, v. 420, n. 2, p. 133–137, 13 jun. 2007.

STAHEL, P. F. et al. Intrathecal levels of complement-derived soluble membrane attack complex (sC5b-9) correlate with blood-brain barrier dysfunction in patients with traumatic brain injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 18, n. 8, p. 773–781, ago. 2001.

STEIN, S. C. et al. 150 years of treating severe traumatic brain injury: a systematic review of progress in mortality. **Journal of Neurotrauma**, v. 27, n. 7, p. 1343–1353, jul. 2010.

STEYERBERG, E. W. et al. Predicting outcome after traumatic brain injury: development and international validation of prognostic scores based on admission characteristics. **PLoS Medicine**, v. 5, n. 8, p. e165; discussion e165, 5 ago. 2008.

STIEFEL, M. F.; TOMITA, Y.; MARMAROU, A. Secondary ischemia impairing the restoration of ion homeostasis following traumatic brain injury. **Journal of Neurosurgery**, v. 103, n. 4, p. 707–714, out. 2005.

STONE, T. W.; ADDAE, J. I. The pharmacological manipulation of glutamate receptors and neuroprotection. **European Journal of Pharmacology**, v. 447, n. 2-3, p. 285–296, 5 jul. 2002.

SUAREZ, J. I. **Critical Care Neurology and Neurosurgery**. Totowa, N.J: Humana Press, 2004.

SUEHIRO, E. et al. Posttraumatic hypothermia followed by slow rewarming protects the cerebral microcirculation. **Journal of Neurotrauma**, v. 20, n. 4, p. 381–390, abr. 2003.

SULLIVAN, P. G. et al. Traumatic brain injury alters synaptic homeostasis: implications for impaired mitochondrial and transport function. **Journal of Neurotrauma**, v. 15, n. 10, p. 789–798, out. 1998.

TAGLIAFERRI, F. et al. A systematic review of brain injury epidemiology in Europe. **Acta Neurochirurgica**, v. 148, n. 3, p. 255–268, 28 nov. 2005.

TALLEY, A. K. et al. Tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis in human neuronal cells: protection by the antioxidant N-acetylcysteine and the genes bcl-2 and crmA. **Molecular and Cellular Biology**, v. 15, n. 5, p. 2359–2366, maio 1995.

TAVAZZI, B. et al. Cerebral oxidative stress and depression of energy metabolism correlate with severity of diffuse brain injury in rats. **Neurosurgery**, v. 56, n. 3, p. 582–589; discussion 582–589, mar. 2005.

TAVAZZI, B. et al. Temporal window of metabolic brain vulnerability to concussions: oxidative and nitrosative stresses--part II. **Neurosurgery**, v. 61, n. 2, p. 390–395; discussion 395–396, ago. 2007.

TEASDALE, G.; JENNETT, B. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. **Lancet**, v. 2, n. 7872, p. 81–84, 13 jul. 1974.

THAIS, M. E. R. DE O. et al. Plasma levels of oxidative stress biomarkers and long-term cognitive performance after severe head injury. **CNS Neuroscience & Therapeutics**, v. 18, n. 7, p. 606–608, jul. 2012.

THEADOM, A. et al. Enzogenol for cognitive functioning in traumatic brain injury: a pilot placebo-controlled RCT. **European Journal of Neurology**: the Official Journal of the European Federation of Neurological Societies, v. 20, n. 8, p. 1135–1144, ago. 2013.

TOKLU, H. Z. et al. The protective effect of alpha lipoic acid against traumatic brain injury in rats. **Free Radical Research**, v. 43, n. 7, p. 658–667, jul. 2009.

TRABOLD, R. et al. The role of bradykinin B(1) and B(2) receptors for secondary brain damage after traumatic brain injury in mice. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**: official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism, v. 30, n. 1, p. 130–139, jan. 2010.

TRAN, N. D. et al. Aquaporin-1-mediated cerebral edema following traumatic brain injury: effects of acidosis and corticosteroid

administration. **Journal of Neurosurgery**, v. 112, n. 5, p. 1095–1104, maio 2010.

TSAL, M. C. et al. Melatonin attenuates brain contusion-induced oxidative insult, inactivation of signal transducers and activators of transcription 1, and upregulation of suppressor of cytokine signaling-3 in rats. **Journal of Pineal Research**, v. 51, n. 2, p. 233–245, set. 2011.

TSURU-AOYAGI, K. et al. Glutathione peroxidase activity modulates recovery in the injured immature brain. **Annals of Neurology**, v. 65, n. 5, p. 540–549, maio 2009.

UNTERBERG, A. W. et al. Edema and brain trauma. **Neuroscience**, v. 129, n. 4, p. 1021–1029, 2004.

UTRERA, M.; ESTÉVEZ, M. Impact of trolox, quercetin, genistein and gallic acid on the oxidative damage to myofibrillar proteins: The carbonylation pathway. **Food Chemistry**, v. 141, n. 4, p. 4000–4009, 15 dez. 2013.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44–84, 2007.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44–84, 2007.

VARMA, S. et al. F2-isoprostane and neuron-specific enolase in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury in infants and children. **Journal of Neurotrauma**, v. 20, n. 8, p. 781–786, ago. 2003.

VAVILALA, M. S. et al. The influence of inhaled nitric oxide on cerebral blood flow and metabolism in a child with traumatic brain injury. **Anesthesia and Analgesia**, v. 93, n. 2, p. 351–353, 3rd contents page, ago. 2001.

WADA, K. et al. Early treatment with a novel inhibitor of lipid peroxidation (LY341122) improves histopathological outcome after

moderate fluid percussion brain injury in rats. **Neurosurgery**, v. 45, n. 3, p. 601–608, set. 1999.

WAKABAYASHI, N. et al. When NRF2 Talks, Who's Listening? **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 13, n. 11, p. 1649–1663, 1 dez. 2010.

WANG, G.-H. et al. Free-radical scavenger edaravone treatment confers neuroprotection against traumatic brain injury in rats. **Journal of Neurotrauma**, v. 28, n. 10, p. 2123–2134, out. 2011.

WANG, Z. et al. [Protective effect of Rheum tanguticum polysaccharides (RTP) on traumatic brain injury in rats]. **China journal of Chinese materia medica**, v. 28, n. 10, p. 974–976, 1, out. 2003.

WERNER, C.; ENGELHARD, K. Pathophysiology of traumatic brain injury. **British Journal of Anaesthesia**, v. 99, n. 1, p. 4–9, jul. 2007.

WILSON, J. T.; PETTIGREW, L. E.; TEASDALE, G. M. Structured interviews for the Glasgow Outcome Scale and the extended Glasgow Outcome Scale: guidelines for their use. **Journal of Neurotrauma**, v. 15, n. 8, p. 573–585, ago. 1998.

WINTERBOURN, C. C.; HAMPTON, M. B. Thiol chemistry and specificity in redox signaling. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 45, n. 5, p. 549–561, 1 set. 2008.

WOO, H. A. et al. Reversible oxidation of the active site cysteine of peroxiredoxins to cysteine sulfinic acid immunoblot detection with antibodies specific for the hyperoxidized cysteine-containing sequence. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 48, p. 47361–47364, 28 nov. 2003.

WOOD, Z. A. et al. Structure, mechanism and regulation of peroxiredoxins. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 28, n. 1, p. 32–40, jan. 2003.

WU, A. et al. Brain and spinal cord interaction: a dietary curcumin derivative counteracts locomotor and cognitive deficits after brain

trauma. **Neurorehabilitation and Neural Repair**, v. 25, n. 4, p. 332–342, maio 2011.

WU, A.; YING, Z.; GOMEZ-PINILLA, F. Dietary curcumin counteracts the outcome of traumatic brain injury on oxidative stress, synaptic plasticity, and cognition. **Experimental Neurology**, v. 197, n. 2, p. 309–317, fev. 2006.

WU, A.; YING, Z.; GOMEZ-PINILLA, F. Vitamin E Protects Against Oxidative Damage and Learning Disability After Mild Traumatic Brain Injury in Rats. **Neurorehabilitation and Neural Repair**, v. 24, n. 3, p. 290–298, 1 mar. 2010.

WYLLIE, A. H.; KERR, J. F.; CURRIE, A. R. Cell death: the significance of apoptosis. **International Review of Cytology**, v. 68, p. 251–306, 1980.

XIA, L. et al. Treatment with ginseng total saponins reduces the secondary brain injury in rat after cortical impact. **Journal of Neuroscience Research**, v. 90, n. 7, p. 1424–1436, 2012.

XIA, L.; CHEN, Q.; CHENG, G. [Effects of ginseng total saponin on traumatic brain edema of rats]. **Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine**, v. 32, n. 12, p. 1671–1674, dez. 2012.

XIONG, Y.; PETERSON, P. L.; LEE, C. P. Effect of N-acetylcysteine on mitochondrial function following traumatic brain injury in rats. **Journal of Neurotrauma**, v. 16, n. 11, p. 1067–1082, nov. 1999.

YAMASHITA, S. et al. Edaravone attenuates impairment of synaptic plasticity in granule cell layer of the dentate gyrus following traumatic brain injury. **The Kurume Medical Journal**, v. 58, n. 2, p. 47–58, 2011.

YANG, J. et al. Alpha tocopherol treatment reduces the expression of Nogo-A and NgR in rat brain after traumatic brain injury. **The Journal of Surgical Research**, v. 182, n. 2, p. e69–77, 15 jun. 2013.

YANT, L. J. et al. The selenoprotein GPX4 is essential for mouse development and protects from radiation and oxidative damage insults. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 34, n. 4, p. 496–502, 15 fev. 2003.

YI, J.-H.; HAZELL, A. S. N-acetylcysteine attenuates early induction of heme oxygenase-1 following traumatic brain injury. **Brain Research**, v. 1033, n. 1, p. 13–19, 1 fev. 2005.

YILMAZ, E. R. et al. The protective effect of 2-mercaptoethane sulfonate (MESNA) against traumatic brain injury in rats. **Acta Neurochirurgica**, v. 155, n. 1, p. 141–149; discussion 149, jan. 2013.

YILMAZ, N. et al. Activity of mannitol and hypertonic saline therapy on the oxidant and antioxidant system during the acute term after traumatic brain injury in the rats. **Brain Research**, v. 1164, p. 132–135, 20 ago. 2007.

YOUNG, B. et al. Effects of pegorgotein on neurologic outcome of patients with severe head injury. A multicenter, randomized controlled trial. **JAMA: the Journal of the American Medical Association**, v. 276, n. 7, p. 538–543, 21 ago. 1996.

YOUNG, W. Secondary CNS injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 5, n. 3, p. 219–221, 1988.

YU, G.-F. et al. Increased plasma 8-iso-prostaglandin F_{2α} concentration in severe human traumatic brain injury. **Clinica Chimica Acta: International Journal of Clinical Chemistry**, v. 421, p. 7–11, 5 jun. 2013.

YUNOKI, M. et al. Effects of lecithinized superoxide dismutase on traumatic brain injury in rats. **Journal of Neurotrauma**, v. 14, n. 10, p. 739–746, out. 1997.

YUNOKI, M. et al. Effects of lecithinized superoxide dismutase on neuronal cell loss in CA3 hippocampus after traumatic brain injury in rats. **Surgical Neurology**, v. 59, n. 3, p. 156–160; discussion 160–161, mar. 2003.

YURKEWICZ, L. et al. The effect of the selective NMDA receptor antagonist traxoprodil in the treatment of traumatic brain injury.

Journal of Neurotrauma, v. 22, n. 12, p. 1428–1443, dez. 2005.

ZACKO, J. C.; HAWRYLUK, G. W. J.; BULLOCK, M. R.

Neurochemical Pathomechanisms in Traumatic Brain Injury. In:

Youmanns: Neurological Surgery. 6. ed. Philadelphia: Elsevier, 2011. v. 4, p. 3305–24.

ZHANG, L. et al. Caffeic acid attenuates neuronal damage, astrogliosis and glial scar formation in mouse brain with cryoinjury. **Life Sciences**, v. 80, n. 6, p. 530–537, 16 jan. 2007.

ZHANG, R. et al. Mechanism of brain protection by nitroxide radicals in experimental model of closed-head injury. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 24, n. 2, p. 332–340, 15 jan. 1998.

ZHAO, J. et al. Caffeic Acid phenethyl ester protects blood-brain barrier integrity and reduces contusion volume in rodent models of traumatic brain injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 29, n. 6, p. 1209–1218, 10 abr. 2012.

ZHAO, Y. et al. [Effect of edaravone on extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway following severe traumatic brain injury in rats].

Chinese Critical Care Medicine, v. 22, n. 4, p. 230–233, abr. 2010.

ZIPFEL, G. J. et al. Neuronal apoptosis after CNS injury: the roles of glutamate and calcium. **Journal of Neurotrauma**, v. 17, n. 10, p. 857–869, out. 2000.